

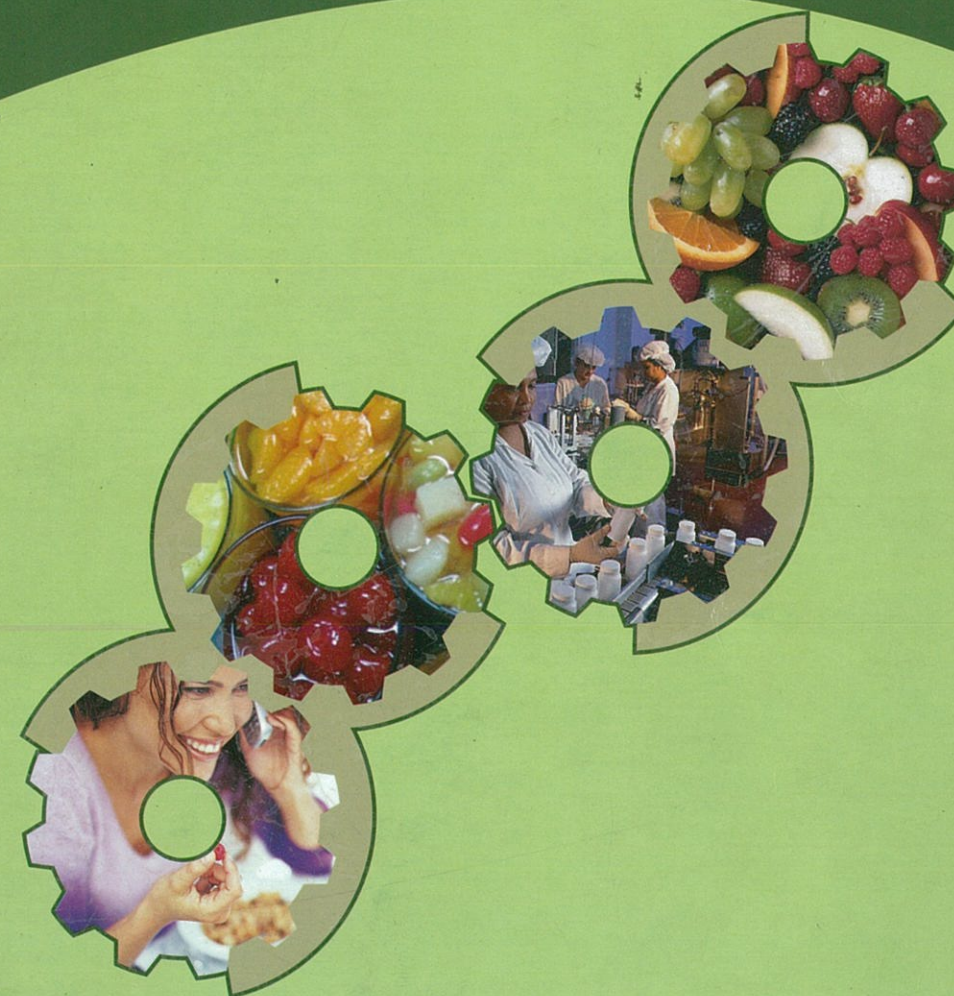


Av. Los Chasquis y Río Payamino.
Campus Académico Huachi
Teléfonos: 2400 987 - 2400 989
Telefax: 593 03 2400 998
Email: fcial@uta.edu.ec
Casilla: 18-01-0334
Websites: www.uta.edu.ec
<http://fcial.uta.edu.ec>

ALIMENTOS, CIENCIA E INGENIERIA Vol. 16(3). 2007

CIBIA VI. Mer

ALIMENTOS CIENCIA E INGENIERIA Vol. 16(3). 2007



Trabajos aceptados
para su presentación en:

CIBIA VI

VI Congreso Iberoamericano
de Ingeniería en Alimentos
(Tecnología)

La revista ALIMENTOS, CIENCIA E INGENIERÍA es una publicación semestral de Artículos Técnicos y Trabajos de Investigación realizados en la FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS de la UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO, así como Publicaciones Científicas de otras Universidades e Instituciones, con las cuales la Facultad mantiene convenios de cooperación mediante el intercambio científico y cultural.

Las contribuciones de la presente publicación son responsabilidad absoluta de los autores.

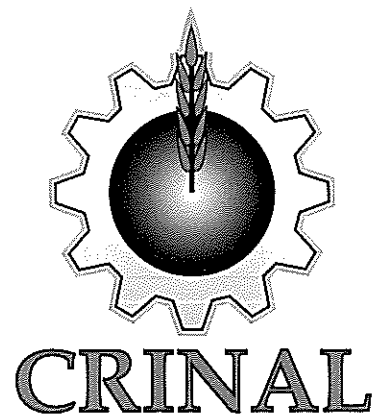


	Universidad Técnica de Ambato
	Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos
Rector	Ing. M. Sc. Luis Amoroso Mora
Vicerrector Académico	Dr. M. Sc. Galo Naranjo Lopez
Vicerrector Administrativo	Dr. M. Sc. Remigio Medina Guerra
Decano	Ing. MBA. Danilo Morales Carrasco
Subdecana	Ing. Mg. Gladys Navas Miño
Calificación de trabajos	Ing. M. Sc. Ph. D. Milton Ramos Moya
Organización de Contenidos y Revisión	Ing. M.Sc. Juan de Dios Alvarado
ISSN	1390 - 2180

Feria Alimentaria



ORGANIZA



noviembre
5 - 8 2007
Ambato, Ecuador

Universidad Técnica de Ambato
Av. Los Chasquis y Payamino
Campus Académico Huachi



Contenido

Editorial. Luis Amoroso Mora.....	1
Presentación. Juan de Dios Alvarado.....	3
TI. BIOTECNOLOGÍA DE ALIMENTOS	
Resultados preliminares de la hidrólisis enzimática de proteína hueso de cerdo y caracterización del sustrato. Ibarz, Albert; Pagan, Jordi; Casero, Tomás y Benítez, Ricardo. (IbarzT1España).	5
Cinéticas enzimáticas comparativas de las actividades proteolíticas de productos comerciales utilizando látex de papaya (Carica papaya) para lograr el ablandamiento de la carne. Ramírez Espinosa, Karla; Cruz y Victoria, María Teresa y Soriano García, Manuel. (RamírezT1México).	7
Propiedades funcionales del betabel (Beta vulgaris) deshidratado por convección forzada. Gallegos-Infante José-Alberto, Medina-Torres Luis, Rocha-Guzman Nuria-Elizabeth. (GallegosT1México).	10
Reología y microestructura de -carragenina bajo diferentes conformaciones inducidas por diversas concentraciones de ión potasio. Núñez-Santiago, María del Carmen; Tecante, Alberto; Garnier Catherine y Doublier, Jean Louis. (NúñezT1México).	13
Estudio Fractal de la irregularidad del borde crecimiento colonial de Rhizopus oligosporus en medio sólido. Camacho Díaz Brenda Hildeliza, Chanona Pérez José Jorge, Ordorica Vargas Carlos, Alamilla Beltrán Liliana, Hernández Sánchez Humberto y Gutiérrez López Gustavo F. (CamachoT1México).	16
Estudio de maduración de plátano morado (Red banana) por el contenido enzimático. Cortés-Acosta, Mary Carmen; Gallardo-Yoja; Anaya-Sosa, I.; Cruz y Victoria, María Teresa. (CortésT1México).	18
Efeito da concentração do inóculo e da relação soluto/substrato de fermentação no crescimento do Aspergillus niger 3T5B8 medido pela variação do teor de glicosamina. Couri Sonia P. Oliveira Ana Carolina, P. Freitas Suely, C. T. Damaso Mônica. (CouriT1Brazil).	21
Produção de hidrolisados protéicos a partir de pena de frango por fermentação submersa. Couri, S. Mazotto, A.M., Damaso, M. C. T., Vermelho, A.B. (CouriT1Brazil).	23
Uso de ferramentas moleculares para garantia da qualidade de alimentos produzidos à base de mamão. Peron, F.N., Matos, A., Oliveira, E.M.M, Barros, N.E.F., Batitucci, M.C.P. Fonseca, M.J.O., Freitas-Silva, O. (FreitasT1Brazil).	25
Producción de xilanasas por Aspergillus niger en fermentación en biopelículas y estado sólido en soporte inerte. Gamarra N. N. y Gutiérrez-Correa M. (GamarraT1Perú).	27
Producción de jarabe de glucosa a partir de almidón de tiquisque (Xanthosoma sagittifolium). Hernández-Peñaranda, Alicia y Quesada-Salazar, Melissa. (HernándezT1CostaRica).	30
Dinámica descriptiva del crecimiento de callos de Beta vulgaris L. cultivadas in vitro mediante análisis fractal de imágenes. Sánchez Segura Lino; Chanona Pérez Jorge; Arenas Ocampo Martha, Alamilla Beltrán, Liliana; Gutiérrez-López, Gustavo y Jiménez-Aparicio Antonio. (JiménezT1México).	33
Uso de la técnica de PCR para confirmar la presencia de una levadura contaminante de vino. Martínez Fernández Claudio, Ganga Angélica, Contreras Castro Angela. (MartínezT1Chile).	36
Evaluación comparativa de dos tipos de miso, elaborados con soya (Glicine max L.) y con chocho (Lupinus mutabilis) dulce y desamargado. Ortega, Eduar y Ramirez, Cristina. (OrtegaT1Colombia).	39
Aislamiento de enzima α -amilasa obtenida de Bacillus subtilis ATCC 21556 para aplicaciones en la industria de alimentos. Prieto, Lena; Grevechova, Renata; Figueroa, Luz Mary; Rozo, Camilo. (PrietoT1Colombia1).	42
Rendimientos de enzimas pectolíticas en fermentación sumergida a partir de Aspergillus niger y Aspergillus foetidus. Prieto, Lena; Grevechova, Renata; Figueroa, Luz Mary; Rozo, Camilo. (PrietoT1Colombia2).	45
Evaluación de la aplicación de enzima pectinasa obtenida a partir de Aspergillus niger en el proceso de producción de pulpa de arazá (Eugenia stipitata sororia) concentrada al vacío. Beltrán, Andrea; Fonseca, Oscar; Guerrero, Yudy; Prieto, Lena. (PrietoT1Colombia4).	48
Aplicación de enzima pectinasa aislada del hongo Aspergillus niger en el proceso de clarificación y fermentación del mosto de vino de uva Vitis labrusca variedad Isabella para la obtención de vino tinto. Rincón, Natalia; Prieto, Lena. (PrietoT1Colombia5).	51
Determinación de la cinética de fermentación en la elaboración de pickles y sauerkraut, usando cultivos iniciadores de bacterias lácticas. Quintero Saavedra Jorge Iván, Cristina Ramírez T. (QuinteroT1Colombia).	54
Evaluación de cinéticas de crecimiento en función de la concentración inicial de glucosa y tiempo de inducción en la producción de enzimas lipolíticas a partir de una bacteria aislada del fruto de palma africana (Elaeis guineensis). Uscátegui, Yomaira; Suárez, Camilo; Jiménez, Carlos; Prieto, Erlide. (SuárezT1Colombia).	57
Estudio preliminar para la obtención de extracto pectínico de cáscara de xoconostle. Yáñez-Fernández, Jorge; González-Martínez, María Guadalupe y Jaime-Fonseca, Mónica. (YáñezT1México).	60

Utilización de residuos agrícolas en la producción de shiitake (<i>Lentinula edodes</i>). Michilena, Ana; German, César y Álvarez, Mario. (MichilenaT1Ecuador).	62
Evaluación de los residuos agrícolas de la costa ecuatoriana como sustratos para el cultivo de <i>PLEUROTUS</i> . Palacios, Adriana; German, César y Álvarez, Mario. (PalaciosT1Ecuador).	65
T2. PELÍCULAS BIODEGRADABLES, ENVASES Y EMPAQUES	
Influencia del espesor sobre las propiedades mecánicas de películas de almidón. Bertuzzi, M.A.; Armada, Margarita y Gottifredi, Juan Carlos. (BertuzziT2Argentina).	68
Influencia del plastificante y la humedad relativa sobre las propiedades mecánicas de películas de almidón. Bertuzzi, M.A.; Armada, Margarita y Gottifredi, Juan Carlos. (BertuzziT2Argentina).	71
Efecto de la congelación-descongelación de envase al vacío tipo pouch para corte de bovino evaluado por MDSC. Meléndez Pérez R., Arjona Román J. L., Zambrano Zaragoza M. de la L. y López Aguado Pinales L. E. (MeléndezT2México).	74
Elaboración de recubrimientos comestibles a base de quitosano y estudio de su efecto antimicrobiano en filetes de salmón. Vásquez, María Belén; Flores, Silvia; Campos, Carmen, Juan de Dios Alvarado y Gerschenson, Lia. (CamposT2Argentina – Ecuador).	77
Desarrollo de un recubrimiento a base de caseinato de sodio y ácido elálgico como antimicrobiano para prolongar la vida de anaquel del chile fresco (<i>Capsicum annuum</i>). Flores Aguilar, J. Miriam; Villaseñor Ortega, Francisco y Pérez Pérez, Ma. Cristina I. (FloresT2Mexico).	80
Desenvolvimento e caracterização de biofilmes de proteínas e pectina. Freitas, Daniela De Grandi Castro; Fakhouri, Farayde Matta; Collares, Fernanda Paula. (FreitasT2Brazil).	83
Propiedades visco-elásticas de filmes biodegradáveis a base de blendas de gelatina e pva. Mendieta-Taboada, Oscar; Sobral, Paulo José do A.; Carvalho, Rosemary A.; Habitante, Ana Mônica Q.B.. (MendietaT2Peru).	86
Efecto de la aplicación de un recubrimiento comestible a base de aislado de proteína de suero de leche (wpi) sobre queso tipo cheddar. Pérez-Medrano, J.A., Correa-Betanzo, J., Pérez-Pérez, C. (PérezT2México).	89
Emprego de atmosfera modificada na conservação da carne suína porcionada e acondicionada em embalagens de transporte tipo masterpack. Rosa, A.F.; Sobral, P.J.A.; Baliceiro, J.C.C.; Freire, M.T.A.; Tavoni, A.M.; Santos, S.F.; Nogueira, I.B.R., Valadão, N.K. (RosaT2Brazil).	91
Produção e caracterização de filmes a base de gelatina coloridos com clorofila. Corat, Michele; Carvalho, Rosemary A.; Fávoro-Trindade, Carmen S.; Sobral, Paulo J.A. (Sobral01T2Brazil).	94
Viscoelasticidad de soluciones filmogénicas de almidón oxidado de plátano y glicerol. Cervantes Montoya, Kathleen Misarai ; Sánchez Rivera, Mirna; López González, Carlos; Bello Pérez , Luis Arturo y Solorza-Feria, Javier. (SolorzaT2México).	97
Reología de soluciones filmogénicas elaboradas con almidón oxidado de plátano y glicerol. Moya Ocegueda, Hilda Fabiola; Sánchez Rivera, Mirna; López González, Carlos; Bello Pérez , Luis Arturo y Solorza-Feria, Javier. (SolorzaT2México).	100
Formación de una película comestible a base de alginato de sodio y aceite esencial de orégano y caracterización de las propiedades mecánicas y de barrera al vapor de agua. Torres-Bojórquez A.E., Arias-Cruzado E.Y., Herrera-Pérez S. y Pérez-Pérez C. (TorresT2México).	103
Estudo das propriedades mecánicas de filmes a base de blendas de gelatina e poli (vinil alcohol) utilizando a metodologia de superfície de resposta. Thais M. C. Maria, Rosemary A., Kamimura Eliana S., Sobral Paulo J. A. Habitante Ana Monica. (Sobral02T2Brazil).	105
T3. TECNOLOGÍAS EMERGENTES Y AMBIENTALES	
Análisis de textura en queso criollo para asociarla con porcentaje de humedad y perfil higiénico, mediante el procesamiento de señales en umbral bajo ultrasónico. Gutiérrez De Piñeros Carlos, Fragozo Elia, David Tannia, Janer Conrado, Félix Beltrán. (GutiérrezT3Colombia).	108
Determinación de la demanda química de oxígeno en efluentes de industrias de lácteos con un método amigable al medio ambiente. Cárdenas, Fernando. y Tripaldi, Piero. (CárdenasT3Ecuador).	110
Aplicación de pulsos eléctricos de baja intensidad para controlar ataques fúngicos en una fruta tropical. Gutiérrez De Piñeros Carlos, Torres Rodelo Mónica, David Venegas Tannia. (GutiérrezT3Colombia).	113
Extracción de polifenoles del tomate de árbol (<i>Solanum Betaceum Cav.</i>) utilizando enzimas. Beltrán, Elena; Vera, Edwin y Ruales, Jenny. (BeltránT3Ecuador).	115
Avaliação e identificação do perfil cromatográfico de compostos voláteis obtidos por pervaporação de extratos solúveis de café. Aleilúcia Oliveira; Humberto R.Bizzo; Virginia M. Matta; Suely P. Freitas; Lourdes M. C. Cabral. (CabralT3Brazil).	117
Aplicación de campos eléctricos pulsados para inactivación de polifenoloxidasas comerciales. Castorena, José Hugo; Robles, Raúl René; Rojas, Marlón; Belti, Jorge; Espinosa, Teodoro; López Erick; Delgado, Raúl. (CastorenaT3México).	119
Concentración de jugo de naranja por destilación osmótica. Castro, Beatriz; Gerla, Patricia; Moreno, Diego y Xavier, Lucía. (CastroT3Uruguay).	121
Conservación de salsa mexicana por pulsos eléctricos de alta intensidad de campo. Juárez Goiz, José Mayolo, Ramos Pacheco, Juana Miriam, Pérez Gámez, Maribel, Zamora Bonilla, Azucena y Bautista Pérez Simeón. (MayoloJuárezT3México).	124
Comparación del índice glucémico de panqué horneado en microondas y convencionalmente. Sánchez-Pardo María Elena, Ortiz-Moreno Alicia y Mora-Escobedo Rosalva. (SánchezT3México).	127
Estudio comparativo del proceso de freído y vapor sobrecaentado/freído en placas de pollo empanizadas. Rosete Hidalgo J., Cenkowski S., Sosa Morales M.E. y Vélez-Ruiz J.F. (VélezT3México).	130

Using response surface analysis to optimize the effect of the high-intensity ultrasound treatment on the functional properties of egg white. Gélvez Victor .Manuel., Mendoza Galvis.Franklin., Delgado Javier.Orlando. (GélvezT3Colombia).	133
T4. ALMACENAMIENTO Y POSCOSECHA	
Evaluación del almacenamiento del grano de maíz (<i>Zea mays</i>) en la calidad del aceite obtenido por extracción mecánica. Hernández, Carlos Enrique, Rodríguez A., Ysamar J., Mieres-Pitre, Alberto. (HernándezT4Venezuela).	136
Caracterización postcosecha de 4 genotipos de tomate de árbol (<i>Solanum betaceum</i> Cav.) cultivados en Ecuador. Ávila Jenny; Ruales, Jenny. (ÁvilaT4Ecuador).	138
Efecto de tratamientos hidrotérmicos en la calidad postcosecha de chile ancho (<i>Capsicum annum</i> L.). Pérez-Cabrera, Laura Eugenia; Barba de Alba, Liliana; López Gutiérrez, Mario Alejandro; Stern Freifeld, Dafna. (PérezT4México).	141
Determinación de madurez óptima de uchuva en postcosecha para estudios de deshidratación osmótica y almacenamiento. Pinzón, Magda Ivone (PinzónT4Colombia).	143
Efecto del hidrofriamiento y la temperatura de almacenamiento sobre la calidad postcosecha de cocona Ramírez, Santiago; Quispe-Condori, Sócrates; Ruales, Jeny. (<i>solanum sessiliflorum</i> dunal). (RamírezT4Perú-Ecuador).	146
Modificación de la atmósfera interna en empaques de lechuga de hoja producidas por cultivo orgánico y su efecto en la calidad del producto. (Velásquez Susana, Pólit Pablo, Suquilanda Manuel. (VelásquezT4Ecuador).	149
T5. PROCESAMIENTO DE ALIMENTOS Y DE SUBPRODUCTOS	
Acuña, Oswaldo y Ruiz, Christian. Formulación de un alimento nutricionalmente balanceado en base a arroz precocido y proteína texturizada de soya. (AcuñaT5Ecuador).	151
"Milk-Drink" de soro de queijo manteiga e suco de acerola <i>Malpighia emarginata</i> DC. Cruz, A.G.da, Sant'Ana, A. S., Macchione, M.M., Teixeira, A.M. & Schmidt, F.L. (SchmidtT5Brasil).	154
Utilización de microextracción en fase sólida (SPME) en la caracterización aromática de productos cárnicos procesados. Gianelli, María Pía. Lorena Briones-Urbe, Julio Junod, Miguel Friz. (GianelliT5Chile).	156
Extracción de gelatina a partir de piel de salmón atlántico (<i>Salmo Salar</i>). Ronceros, Betty; Javier Leiva y Horstmeier, Jessica. (RoncerosT5Chile).	159
Desarrollo de una herramienta computacional para la determinación de curvas de penetración de calor en alimentos enlatados "CPC plus". Rodríguez Barragán Oscar Alberto; Freddy Forero Longas; Guillermo Salamanca Grosso. (RodríguezT5Colombia).	162
Determinación de la máxima retención de ácido ascórbico en la elaboración de la conserva de aguaymanto (<i>Physalis peruviana</i>) en almibar aplicando el método superficie de respuesta. Encina Zelada, Christian Rene y Ureña Peralta, Milber O. (EncinaT5Perú).	164
Utilización de la harina de palma coroba (<i>Attalea macrocarpa</i>) como sustituto parcial de la harina de trigo en la elaboración de pan. Camacho Belén, Douglas Rafael, Marcano José, Pérez García Luis, Alemán Rafael, Moreno Álvarez Mario, García David y Medina Carlos. (BelénT5Venezuela).	167
Estabilidad microestructural e do teor de carotenoides de pós obtidos da polpa de pequi (<i>Caryocar brasiliense</i> Camb.) liofilizada. Alves, Cibele Cristina de Oliveira; Resende, Jaime Vilela; Prado, Mónica; Cruvinel, Rafael y Lima, Helena. ResendeT5Brasil).	170
Sazonador a base de cabezas de camarón (<i>Penaeus</i> SP) de cultivo. Andrade, Ricardo David, Chávez, Milena y Naar, Vanesa. (AndradeT5Colombia).	173
Efecto antioxidante del extracto de romero (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.) y sus compuestos ácido rosmarínico, carnosol y ácido camósico en una pasta cárnica. Hernández-Hernández, Elvia; Ponce-Alquicira, Edith; Jaramillo-Flores, María Eugenia y Guerrero-Legarreta, Isabel. (HernándezT5México).	175
Efecto de la deshidratación osmótica de chayote (<i>Sechium edule</i>), sobre la actividad peroxidada y polifenoloxidas. Zambrano-Zaragoza, María de la Luz, Jiménez-Vieyra, María Elena, Rosas-Ortiz, L., y Vázquez-Camarillo, Grecia. (ZambranoT5México).	177
Desarrollo de productos alimenticios a partir de carne de esturión (<i>Acispenser baerii</i> y <i>Acispenser ruthenus</i>) cultivado en Uruguay. Bertullo, E.; Fernández, S. Campot, J. Gómez, F. y Pollak, A. (CampotT5Uruguay).	180
Determinación de las condiciones de temperatura en un proceso de secado de uchuva (<i>Physalis peruviana</i>) por aire caliente con osmódeshidratación como pretratamiento (Cinética de degradación de b-caroteno). Castro, Adriana María; Rodríguez, Ligia; y Vargas, Edgar Mauricio. (VargasT5Colombia).	183
Elaboración de un postre tipo ate con alto contenido en fibra. Cortés, G. Alicia; Rodríguez M. José Luis; Sánchez Ch. Xariss; Torres E. Jessica. (CortésT5México).	186
Elaboración de una panela en bloque a nivel de planta piloto y evaluación de su calidad. Mujica, María Virginia, Guerra, Marisa y Magaly Lira. (MujicaT5Venezuela).	188
Estudio del efecto del proceso de deshidratación osmótica en la obtención de trozos secos de carambola (<i>Averroha carambola</i> L.). Castillo Ortiz, María Eugenia y Cornejo Zúñiga, Fabiola. (CastilloT5Ecuador).	190
Obtención de un polvo de plátano rico en fibra. Caracterización parcial. Islas-Hernández, Jose Juan; Rodríguez-Ambríz, Sandra Leticia; Agama-Acevedo, Edith; Bello-Pérez, Luis Arturo. (AgamaT5México).	194
Utilización de enzima transglutaminasa en la elaboración de salchichas a base de descartes de filetes de salmón. Bugueño, Graciela; Petzold, Guillermo; Pinto, Andrea; Plaza, Claudio y Bastías, José Miguel. (BugueñoT5Chile).	197
Cashew apple fruit (<i>anacardium occidentale</i> l.) Juice concentration by reverse osmosis. Terrine Katia; Gurak Poliana; Cabral Lourdes; Matta Virginia; Reynes Max; Dornier Manuel; Abreu Fernando. (CabralT5Brazil).	200
Secagem osmo-convectiva da fruta da palma forrageira (<i>Opuntia figus indica</i> Mill). Cavalcante, J. A., Medeiros, C. D., Alsina, O. L. S. (CavalcanteT5Brazil).	202

Estudio del secado convectivo de <i>Capsicum annuum</i> variedad poblano. Dorantes- Álvarez Lidia, Ortiz-Moreno Alicia, Juárez- Meneses Karla, Gutierrez-López Gustavo. (DorantesT5México).	205
Estudio del efecto de la aplicación de goma arábica y cultivos probióticos (<i>L. Casei</i>) por inyección e impregnación sobre la textura de queso fresco. López Arturo, Felipe Caez, Ramírez Gabriela. (Gabriela2T5Colombia).	208
Efecto del tratamiento térmico sobre la degradación de la clorofila y la pérdida de color en una mezcla de vegetales. Casas Forero, Nidia, Sotelo Díaz, Indira, Caez Ramírez, Gabriela. (GabrielaT5Colombia).	211
Estudio de las condiciones de operación para obtener piña en polvo por medio de un secador por aspersión a escala laboratorio. García-de la Cruz, Alfredo, Monroy Navarrete, Fabiola, Patiño Cortes, Enrique e Medina Mondragón Ismael. (GarcíaT5México).	214
Procesamiento de jitomate para elaboración de salsa catsup libre de agroquímicos y aprovechamiento de subproductos por fermentación en medio sólido. Grande Trejo Josué Joaquín, Fabela Sánchez Omar Felipe, Pérez Pérez Cristina, Herrera Pérez Sandra. (HerreraT5México).	216
Optimización del proceso de extracción de antocianinas del camote morado (<i>ipomoea batatas</i> (L.) Lam) por tratamiento con vapor y lixiviación a temperatura ambiente con agua acidulada. Herrera Núñez, Esteban Gabriel; Betalleluz Pallardele, Indira; Ureña Peralta, Milber. (HerreraT5Perú).	219
Respuesta de <i>Listeria innocua</i> a distintos estreses luego de la aplicación de antimicrobianos naturales en suero de queso. Hernaiz, Laura; von Staszewski, Mariana; Jagus, Rosa Juana (JagusT5Argentina).	222
Caracterización de patrones morfométricos del arroz pulido utilizando análisis digital de imágenes. Valenzuela Riaño Jackeline, Espinoza Mendoza Rosa Elena, Del Villar Martínez Alma, Arenas Ocampo Martha Lucía, Vanegas Espinosa Pablo, Solano Navarro Araceli y Jiménez-Aparicio Antonio. (JiménezT5México).	225
Caracterización colorimétrica de tagetes erecta y tagetes pátula a través del análisis digital de imágenes. Quintanilla Carvajal María Ximena, Del Villar Martínez, Alma, Arenas Ocampo, Martha Lucía y Jiménez-Aparicio Antonio. (JiménezT5México).	228
Recovery of nutraceuticals from grain sorghum and its ddgs. Leguizamón Carolina, Weller Curtis L, Schlegel Vicki L, Carr Timothy P. (LeguizamónT5Estados Unidos).	231
Grape phenolics impregnation by osmotic dehydration: influence of osmotic agent on mass transfer and product characteristics. Rózek Aleksandra, Güell Carme, López Francisco, Ferrando Montserrat. (LópezT5España).	235
Production of dried tomatoes using the osmo-convective drying: sensory analysis. Magalhães, Margarida Maria dos Anjos; Silva, Joseneide; Souza, Josilma Silva de; Medeiros, Maria de Fátima Dantas. (MagalhãesT5Brazil).	239
Evaluación del efecto del refinado y de la centrifugación en compuestos bioactivos del açaí. G. Gruz Ana Paula, N. M. Palácio Denise, M.C. Cabral Lourdes, Donangelo Carmen, M. Matta Virginia. (Matta1T5Brazil).	242
Influence of microfiltration concentration factor on açaí functional characteristics. M. N. Palacio Denise, G. Gruz Ana Paula, M. C. Cabral Lourdes, P. Freitas Suely, M. Matta Virginia. (Matta2T5Brazil).	245
Elaboração de bebida à base de açaí, banana e xarope de guaraná utilizando a fração retida na microfiltração. Corrêa B. Cristina; Palacio N. M. Denise; Gil Cruz Ana Paula; Cabral M. C. Lourdes; Matta M. Virginia. (Matta3T5Brazil).	247
Estudo da higroscopicidade do leite de cabra em pó produzido na secagem do leite de jorro com partículas de polipropileno e avaliação das propriedades físicas do leite reconstituído. Medeiros, Uliana Karina Lopes ; Marciano, Leonardo Almeida; Nascimento, Ruthnéia Jéssica Alves; Passos, Maria Laura Azevedo; Medeiros, Maria de Fátima Dantas. (MedeirosT5Brazil).	249
Optimización de los parámetros fisicoquímicos para la extracción alcalina de proteínas de hígado de bovino, aplicando el método de superficie de respuesta. Morales, Eduardo; Elias, Carlos y Salvá, Bettit. (MoralesT5Perú).	251
Desarrollo de kumquat (<i>Fortunella margarita</i> [Lour.] Swing) apertizado en almibar y evaluación de sus características físicas, químicas y sensoriales. Razeto P., Claudia y Núñez K., Hugo. (NúñezT5Chile).	254
Processo de secagem do bagaço de goiaba e caju para desenvolvimento de produto: estudo comparativo entre os modelos experimental e teórico baseado na 2ª lei de pick. Oliveira, Edson Leandro; Matias, Maria de Fátima de Oliveira ; Magalhães, Margarida Maria, dos Anjos e Oliveira, Antônia Beatriz Viana. (OliveiraT5Brazil).	257
Efecto del NaCl en soluciones combinadas de sacarosa sobre las pérdidas de agua y ganancia de solutos de plátano (<i>Musa paradisiaca</i> L. Var. Dominico Hartón) deshidratado osmoticamente. Ayala Aponte, Alfredo; Torres Valenzuela, Laura; Tabarquiño Rivera; Paola y Diaz Ortiz, Alberto. (AyalaT5Colombia).	259
Comparación de la deshidratación de cubos de zanahoria en lecho fluidizado y lecho por fuente-fluidizado con y sin tubo central. Cárdenas Bailón Fernando, Osorio Revilla Guillermo y Gallardo Velázquez Tzahyri. (OsorioT5México).	262
Conservación de ajo (<i>Allium sativum</i> L.) minimamente procesado mediante técnica de impregnación a vacío. Pérez-Cabrera, Laura Eugenia; Ramírez Gómez, María Magdalena; Ramírez Carillo, Rosa Elena. (PérezT5México).	265
Impregnação a vácuo de amido gelatinizado para a preservação da microestrutura de melões congelados. Vilela de Resende Jaime; Reno Marciu José, Torres Prado Mônica Elisabeth. (Resende2T5Brazil).	267
Qualidade e textura de morangos submetidos a tratamentos pré-congelamento com aditivos e impregnação à vácuo. Cruvinel, Rafael Souza Ribeiro; Resende, Jaime Vilela de; Mônica Elisabeth Torres Prado. (Resende3T5Brazil).	270
Valoración de índices de pilada de algunas variedades de arroz colombiano. Salamanca Grosso Guillermo; Osorio Tangarife Mónica Patricia; Álvarez Laverde Héctor Rene; Rodríguez Barragán Oscar Alberto. (SalamancaT5Colombia).	273
Estudio de formulaciones para elaboración de aderezos con ajonjolí. Sánchez-Pardo, María Elena, Jiménez-García, Epifanio y Maya-Ocaña, Karina. (SánchezT5México).	276
Termoproceso de mezclas de puré de zanahoria y papaya var. Maradol en un intercambiador de calor de superficie raspada y su efecto sobre la calidad del producto. Llano López, S. E., Cruz y Victoria, Ma. T., Osorio Revilla, G. I., Santiago Pineda, T. (SantiagoT5México).	279

Estudo comparativo da acidificação do leite bubalino e caprino em relação ao leite bovino. Clementino L, Nascimento J. W. do, Silva P. D. L. da, Medeiros A. C., Sousa B. & Correia R. T.P. (SilvaT5Brazil).	282
Avaliação da acidificação e pós-acidificação do iogurte de leite de búfala inoculado por cultura <i>starter</i> prebiótica. Silva, P.D.L. da, Bezerra, M.F., Nascimento, J.W, Magalhães, M. M. & Correia, R.T.P. (SilvaT5Brazil).	285
Efecto del edulcorante natural esteviósido en la elaboración de mermelada de guayaba dulce. Simanca, Mónica María; Carmona, Angela María; Lombana, Gilma Patricia y De Paula, Claudia Denise. (SimancaT5Colombia).	288
Efecto antioxidante de diferentes fracciones de lecitina de girasol enriquecidas en fosfatidilcolina. Cabezas, Dario Marcelino; Tomás, Mabel Cristina. (TomásT5Argentina).	291
Comparative study of physical and sensory properties of potato slices during atmospheric and vacuum deep-fat frying. Troncoso, Elizabeth, Pedreschi, Franco & Zúñiga, Rommy N. (TroncosoT5Chile).	294
Eficiencia del ensilado ácido en desechos de camarón para la extracción de astaxantina. M. E. Franco-Zavaleta, E. Ponce-Alquicira, G.F. Gutiérrez-López, I. Guerrero-Legarreta. (FrancoT5México)	297
Transferencia Tecnológica de Marinado y Ahumado Tradicional en Caliente a la Población de Pescadores de Chichiriviche de la Costa. Estado Falcón Venezuela. Rodríguez, Jaime; González, Maria y Mujica, Mauris. (RodríguezT5Venezuela).	299
Estudo experimental da secagem de fatias de caju (<i>Anacardium occidentale</i> L.) em secador de bandejas. Aragão R. F. Alsina O. L. S. Guedes A. M. Calvante J. A. (AragaoT5Brazil).	302
Efecto antimicrobiano de distintas variedades de te verde argentino en suero de queso líquido. Von Staszewski Mariana, Jagus Rosa Juana. (VonT5Argentina).	305
Caracterización fisicoquímica y rendimiento del queso (queso de pasta hilada) elaborado con leche de búfala. Arteaga Margarita, Simanca Mónica, Soto Erwing, Puente Jesús. (ArteagaT5Colombia).	308
Evaluación del uso de tecnología de barreras para la deshidratación de frutas de clima templado y tropical. Herrera, Paulina; Acuña, Oswaldo. (HerreraT5Ecuador).	312
Elaboración de productos lácteos utilizando microfiltración tangencial (MFT). Molina, Sandro; Jácome, Alexander; Cuaspu, Amable; Zambrano, Gloria; Rodríguez, Edison y Vera, Edwin. (RodríguezT5Ecuador).	315
Estudio tecnológico de variables de proceso mediante diseño experimental y función de dominancia para evaluar la calidad sensorial del manjar de leche con hidrólisis enzimática. Sánchez, Claudio; Urgilés, Gabriela; Verdugo, Priscila; Lazo, Jessica y Rojas, Cristian. (SánchezT5Ecuador).	318
Extracción y caracterización de la pectina en tres especies del género <i>vasconcellea</i> , nativas del sur del Ecuador. Atarihuana S. María G., Montalbán Odila G., Rojas A. Sandra P., Tene T. Ángel V. (TeneT5Ecuador).	321
Evaluación del uso de la microfiltración tangencial (mft) en la concentración de leche para la elaboración de queso. Arias, Mery; Espinel, Alexandra y Vera, Edwin. (VeraT5Ecuador).	324
Evaluación de mezclas de harina de trigo (<i>Triticum</i> spp.) y triticale (<i>Triticosecale wittmack</i>) para elaborar pan de migajón. Arámbula-Villa Gerónimo, López-Pérez Angelita, Mendoza-Elos Mariano, Gutiérrez-Arias Edmundo y Arámbula-Peña Ana Laura. (ArámbulaT5México).	327
Extracción de una oleoresina abundante en carotenoides de Chile de árbol (<i>Capsicum annuum</i>). Bautista Pérez Simeón, Martínez González José Luis, Barranco Jiménez Rosita, Bautista Cano Perla del Carmen, Juárez Goiz Mayolo, Ramírez Estrada Serafin, Quintana Rodríguez Elizabeth, Arellano Alcantara Sandra, Villaseñor Ortega Francisco, (BautistaT5México).	329
Secado de rodajas de piña (<i>Ananas comosus</i>) previamente deshidratadas en soluciones osmóticas de sacarosa-agua-etanol. Aguilar-Paz, Selfa; Mendieta-Taboada, Oscar; Bardales, Clarissa; Medina-Vivanco, Mari. (AguilarT5Perú).	332
Evaluación de la fibra dietética de harina de caigua (<i>Cyclanthera pedata</i> L.) obtenida por dos métodos de secado. Baldeón-Chamorro, Edwin y Campos Gutiérrez, David. (BaldeónT5Perú).	335
Preparación de mermelada y té diurético de <i>Opuntia picus</i> . Játiva Cumandá. (JátivaT5Ecuador).	338
T6. INNOVACIÓN TECNOLÓGICA	
Efecto del quitosano en la consistencia de mermeladas de mora. Arancibia, Mirari Y.; Almeida, Alba V. y Alvarado, Juan de Dios. (ArancibiaT6Ecuador).	339
Utilización de la pulpa de café (<i>Coffea arabica</i>) para elaborar una bebida alcohólica fermentada. Belloso Genette, Borthomiert Daniel, Urbaneja Eduardo, Colivet Julio, Noriega Adriangela. (BellosoT6Venezuela).	342
Microencapsulation of lycopene in liposomes for food applications: a preliminary study. Borges, R.P.; Silva, T.F.; Pinho, S.C. (BorgesT6Brazil).	344
Evaluación de tres métodos para la extracción de goma de la semilla de acacia de tres espinas (<i>Gleditsia triacanthos</i> L.). Estévez, Ana María, Escobar, Berta, Martínez, Patricia y Figuerola Fernando. (EstévezT6Chile).	347
Filtración estabilizante de vinos blancos: primeros resultados en escala semi-industrial. Salazar, Fernando Noé; de Buijn, Johannes y López, Francisco. (LópezT6España).	350
Propiedades dieléctricas do feijão verde (<i>Vigna unguiculata</i> (L) Walp) cozido e in natura. Medeiros, P.V.D, Mata, A.L. de M. L.; Mata, W; Medeiros, M.F.D, Moia Júnior, M. da S. (MedeirosT6Brazil).	353
Influencia del contenido de levaduras en la inactivación de cinco cepas de <i>e. Coli</i> o157:h7 inoculadas en jugo de naranja exprimido tratado con radiación UV. Oteiza, Juan Martín.; Giannuzzi, Leda y Zaritzky, Noemi. (OteizaT6Argentina).	356
Determinación de color en filetes de salmón (<i>Salmo Salar</i>) usando video digital y análisis de imágenes. Quevedo, Roberto y Aguilera, José Miguel. (QuevedoT6Chile).	359
Preparation and characterization of liposomes microencapsulating essential oil of brazilian cherry (<i>eugenia uniflora</i> l.). Yoshida, P.A.; Rodrigues, R.A.; Foglio, M.A.; Pinho, S.C. (YoshidaT6Brazil).	362
Elaboración de licor de Arazá (<i>Eugenia stipitata</i>) de la Amazonía Ecuatoriana. Ortiz, Jacqueline; Mendoza, Guillermo. (OrtizT6Ecuador).	364

EDITORIAL

Hemos empezado a vivir los inicios del Tercer Milenio y constituye por lo tanto un gran reto, ser parte de la *sociedad del conocimiento*, por que exige estar preparados para avanzar en los grandes cambios que ha significado el desarrollo de la información, la globalización en todas sus instancias y el avance continuo y sin retorno de la investigación científica y tecnológica.

Ante el avance arrollador de estos factores la Universidad definitivamente será el vínculo preponderante que con una nueva visión de futuro sea dinámica, investigadora, creadora y que sea capaz de producir transformaciones fundamentales para el desarrollo

Las Universidades y todos quienes hacen investigación no pueden quedar fuera del impacto social que significa una nueva sociedad globalizada con un reacomodo acelerado de los movimientos políticos, económicos y culturales y que por supuesto afecta a las organizaciones en su ámbito de formación educativa.

Por lo señalado la Universidad Ecuatoriana y su futuro dependerá de la capacidad de transformación, innovación y aporte a una sociedad tan cambiante y que debemos estar preparados para dar respuesta a los grandes desafíos de una época exigente como la que nos ha tocado vivir.

Por otro lado nuestro compromiso debe consistir en la vinculación estrecha y permanente con la colectividad, que permita impulsar procesos de desarrollo con la intervención protagónica de los sectores sociales, productivos, económicos e instituciones publicas y privadas, y que trabajando juntos impulsemos la construcción de un mundo diferente, con una visión compartida y con un liderazgo moral que pueda garantizar su accionar en todos los niveles.

Ante estos acontecimientos Iberoamérica debe tener propuestas claras para avanzar en los diversos campos del conocimiento y que alentador resulta para la humanidad la investigación y aplicación de nuevos conceptos para la tecnificación y desarrollo de innovadores procesos en el campo de la Ingeniería de Alimentos en todas sus especialidades y que empieza desde el mejoramiento de los suelos, y avanzan con la producción de alimentos y nuevas tecnologías para imprimir calidad al servicio del hombre.

En el Ecuador, la formación profesional para el procesamiento y producción de alimentos fue llevada al campo de la ingeniería por iniciativa de la Universidad Técnica de Ambato. Esta labor académica permitió hacer que la ciencia y la tecnología, como fundamentos de la ingeniería, contribuyan al mejoramiento de la producción industrial y la comercialización de alimentos en nuestro país.

La ingeniería en alimentos debe responder fundamentalmente a dos problemas de especial importancia. Por un lado realizar una producción en volúmenes suficientemente altos y con costos que permitan atender la demanda de la población en sus diferentes estratos diferenciados por distinta capacidad adquisitiva. En el caso de Ecuador la población crece con tasas relativamente elevadas; a esta realidad debe agregarse la desnutrición que al igual que otros países subdesarrollados se mantienen en niveles altos.

El segundo problema es satisfacer las exigencias de un mercado dinámico caracterizado por la innovación. Continuamente aparecen nuevos productos, nuevas presentaciones, nuevos envases, etc. a lo que debe agregarse las innovaciones tecnológicas que se incorporan los procesos productivos y que no son percibidos por el consumidor. Esto constituye un reto para la industria alimentaria expuesta a la competencia de otros países en un mundo globalizado.

Este VI Congreso Iberoamericano de Ingeniería en Alimentos, por su Convocatoria y participación de diferentes personalidades de tantos países amigos incrementará a no dudarlo los vínculos suficientemente fuertes entre la sociedad y los procesos de investigación científica, análisis tecnológico y difusión del pensamiento creador.

Desde nuestra Universidad Técnica de Ambato pionera de la Ingeniería en Alimentos en el Ecuador se difundirá a no dudarlo a todos los confines del planeta el pensamiento creador de gente que considera que a través del conocimiento tendremos siempre un mundo mejor.



M. Sc. Ing. Luis Amoroso Mora
RECTOR UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

PRESENTACIÓN DE LAS PUBLICACIONES DE LOS TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN ACEPTADOS EN EL SEXTO CONGRESO IBEROAMERICANO DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS.

Iberoamérica se destaca como una de las regiones o posiblemente como la región de mayor biodiversidad en el planeta y con numerosos casos de megadiversidad. Los alimentos son una parte extremadamente importante de esta megadiversidad y son un pilar para la generación de nuevas variedades y para la seguridad alimentaria futura. En otras palabras las posibilidades de producir nuevos y mejores alimentos es prácticamente infinita, pues siempre aparecerán o se desarrollarán nuevas variedades y genes con características propias. La Ingeniería de Alimentos está llamada para aceptar el reto de transformar, conservar, producir nuevos y mejores alimentos utilizando adecuadamente estos vastos recursos, no es posible pensar en cambios beneficiosos, tampoco en la industrialización de productos alimenticios, sin el aporte directo de los conocimientos y de las personas directamente relacionadas con esta actividad.

Sin duda una de las áreas del conocimiento de mayor desarrollo en el momento actual en el mundo, es la relacionada con los Alimentos. Políticas de Estado de muchos países y regiones, como es la Seguridad Alimentaria, son motivo de permanente preocupación y apoyo. En este marco la Ingeniería de Alimentos desempeña un rol protagónico.

Varios son los intentos realizados para definir lo que es la Ingeniería de Alimentos, sin embargo ninguna de ellas ha podido satisfacer a plenitud todo su ámbito de acción y proyecciones. Lo que sí está claro es que conforme avanza el tiempo, las definiciones también se amplían y abarcan nuevos y más amplios sectores en los cuales su participación es extremadamente importante.

Al intentar relacionar lo indicado con una cadena alimentaria básica que incluya: la producción, la transformación, la comercialización y el consumo de alimentos; fácilmente se establece que la Ingeniería de Alimentos está vinculada con las cuatro fases indicadas de la cadena alimentaria. Hace relativamente pocos años se asociaba a esta profesión únicamente con la segunda fase, transformación de alimentos, especialmente con el cálculo, diseño, construcción e instalación de empresas y plantas industriales, en el momento actual todo cambia y la incidencia de la profesión es cada vez mayor.

En CIBIA VI se expresa este desarrollo y cambio constante a través de cuatro engranajes o ruedas dentadas, pensemos que siempre están girando y que al final se unen, pues los resultados que se obtengan al final en el consumo, retroalimentan a las investigaciones sobre producción y así sucesivamente.

En el primero de los engranajes está representada la fase de producción mediante varias frutas, es fácil reconocer que varios de los temas seleccionados para este Congreso en la parte de Ciencia de Alimentos, están directamente relacionados con la producción, así: Propiedades físicas y coeficientes de transferencia. Propiedades químicas y bioquímicas. Biología, Microbiología predictiva y microestructura. Modelado y simulación. Sin embargo se debe señalar que estos temas también son indispensables en toda la cadena alimentaria, pues proporcionan la información fundamental para la caracterización y mejor conocimiento de todos los alimentos, estén éstos en su estado original o procesados. Se destaca también la importancia que tienen las Ciencias Naturales: Física, Química y Biología en el estudio de los alimentos, por ello no es extraño que un elevado número de las contribuciones científicas traten estos temas, manteniendo como base a las Matemáticas con el sorprendente avance de las herramientas de computación.

La segunda rueda dentada simboliza la transformación en una planta procesadora. Es el sector de mayor incidencia actual de la Ingeniería de Alimentos y varios de los temas de CIBIA VI, en especial los de Tecnología y Procesos están estrechamente relacionados, así: Procesos para el diseño de alimentos. Procesos de separación mecánica, reología y transporte. Procesos con transferencia de calor, masa y combinados. Equipos y plantas industriales. Biotecnología de alimentos. Tecnologías emergentes y ambientales. Procesamiento de alimentos y de subproductos.

La tercera rueda dentada representa la siguiente fase de la cadena alimentaria, la comercialización, aparecen entonces las figuras de las frutas procesadas y envasadas. Nuevamente se pueden asociar varios temas de CIBIA VI que están directamente relacionados con esta fase, entre ellos: Tiempos de vida útil y procesos de deterioro. Películas biodegradables, envases y empaques. Almacenamiento y poscosecha.

El cuarto engranaje simboliza posiblemente la fase más importante de la cadena alimentaria, el consumo de manera primordial por los humanos, todos los esfuerzos que se realizan en Ingeniería de Alimentos deberán estar orientados hacia la conservación y mejor utilización de los alimentos con criterios de calidad, inocuidad y protección del medio ambiente. Que importantes son los trabajos relacionados con: Innovación tecnológica. Propiedades funcionales y sensoriales. Nutrición y control de calidad.

Se establece entonces la gran importancia que tiene la Ingeniería de Alimentos a lo largo de toda la cadena alimentaria, desde la producción hasta su utilización final, es un hecho que en varias de las fases se constituye en un elemento esencial y con gran futuro. A manera de ejemplo no está lejano el día en que se conozca, modele y simule mediante computadoras, la transferencia de masa de las moléculas de hierro o de otros nutrientes a través de la membrana intestinal, como un aporte para entender y mejorar la utilización nutricional de los alimentos; estos resultados retroalimentan las fases anteriores para seleccionar productos, procesarlos disminuyendo pérdidas, comercializarlos en forma adecuada y aprovecharlos de la mejor manera. El ciclo se repetirá y continuará.

Más allá del enfoque de la cadena alimentaria, es para la Universidad Técnica de Ambato de primordial relevancia el tema de la Educación. Según la Misión Institucional de nuestra Universidad se intenta: Satisfacer las demandas científico-tecnológicas de la sociedad ecuatoriana en interacción dinámica con sus autores, formar profesionales líderes con pensamiento crítico, reflexivo, creativo, con conciencia social que contribuya al desarrollo científico, técnico, cultural y axiológico del país; desarrollar la investigación científica y tecnológica como un aporte en la solución de los problemas; producir bienes y prestar servicios, para contribuir al mejoramiento de la calidad de vida de los ecuatorianos e impulsar el desarrollo sustentable del país. CIBIA VI cumple con los propósitos de la Universidad en lo relacionado con los Alimentos.

En este amplio marco se presenta el esfuerzo de la publicación de los trabajos de investigación aceptados para su presentación en el Sexto Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos, oportunidad única para Ecuador y Ambato de participar en el avance de esta rama del conocimiento con los más destacados científicos de Iberoamérica, Estados Unidos de América y de otros países del mundo. La Revista de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos: ALIMENTOS: CIENCIA E INGENIERÍA, Volumen 16 correspondiente al año 2007, sirve como medio adecuado para la difusión de los trabajos como una Memoria del esfuerzo investigativo realizado en México que es el país con el mayor número de artículos de investigación presentados, seguido de Colombia y Ecuador. Otros países que enviaron sus contribuciones fueron: Brasil, Argentina, Chile, Perú, Venezuela, España, Uruguay, Costa Rica, USA, Alemania, Italia y Suecia; a todos muchas gracias por el esfuerzo y la confianza depositada en el Comité Organizador de CIBIA VI, en la ciudad de Ambato y en general en Ecuador.

Por la elevada cantidad de contribuciones, trescientos cincuenta, fue necesario ordenarlas y distribuirlas en distintos Números de la Revista, destinados de manera específica a trabajos que según el Temario corresponden a Procesos, Ciencia y Tecnología.

Quienes hacemos la Facultad de Ciencia e Ingeniería de Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato-Ecuador, creemos firmemente que además de los medios electrónicos de comunicación, los documentos escritos constituyen un mejor testimonio de la historia de acontecimientos relevantes. Por ello es grato someter a consideración de Iberoamérica y del mundo el estado del conocimiento y esfuerzo investigativo que se realiza especialmente en nuestros países en el campo de la Ingeniería de Alimentos, sus bases científicas y aplicaciones tecnológicas.

Ecuador. Ambato. Noviembre del 2007.



Presidente CIBIA VI

RESULTADOS PRELIMINARES DE LA HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE PROTEÍNA HUESO DE CERDO Y CARACTERIZACIÓN DEL SUSTRATO.

Ibarz, Albert¹; Pagan, Jordi¹; Casero, Tomás³ y Benítez, Ricardo^{1,2}.

¹- Departamento de Tecnología de alimentos UTPV-CeRTA, Universidad de Lleida, Av. Rovira Roure, 191, CP 25198 Lleida - España

²- Grupo de Química de Productos Naturales, Universidad del Cauca, Popayán -Colombia

³- Departamento de Química, Universidad de Lleida, Av. Rovira Roure, 191, CP 25198 Lleida – España.

jpagan@tecal.udl.cat

Palabras clave: Biotecnología de alimentos, hidrólisis enzimática, proteínas, hueso de cerdo, neutrase®.

RESUMEN

En el presente trabajo se presentan los resultados de la caracterización del sustrato y se presentan resultados preliminares de la hidrólisis enzimática, como parte inicial en la búsqueda de nuevas aplicaciones en el aprovechamiento de residuos óseos generados por la industria cárnica porcina de España. La muestra de hueso presentó un buen porcentaje de proteína para los fines propuestos y unas concentraciones de minerales que podrían ser promisorias para su uso como fertilizantes. Se produjeron hidrolizados de proteína con un grado de entre 15 y 20 por ciento, la distribución de pesos moleculares del hidrolizado permitiría su uso como emulsificante y espesante, entre otros.

INTRODUCCIÓN

España produce un elevado número de cabezas porcinas al año (23.857.776 en 2002), de las cuales la provincia de Lérida participa con aprox. el 12 %. (Estadística i Conjuntura Agraria, 2002). Los subproductos generados en los mataderos, con tan elevado número de animales sacrificados, supera las posibilidades de aprovechamiento.

Los huesos son uno de los subproductos más abundantes en el procesado de carne de cerdo ya que constituyen aproximadamente el 35 % del peso in vivo de un animal adulto. Estos pueden ser una buena fuente de proteína para diferentes usos. Un alto porcentaje de esta fuente proteica y por tanto de nitrógeno, es utilizada como pienso y fertilizante, sin embargo una parte no despreciable es destruida (Duerr y Earle, 1973; Jobling, 1986).

Como posibilidad de ampliar los usos de estos residuos se han desarrollado procesos de hidrólisis para transformar este subproducto de la industria cárnica en productos de aplicación en el mercado, de tal manera que pueden incrementar su valor (Webster *et al.*, 1982). Linder *et al.* (1996) estudiaron la hidrólisis enzimática de huesos de ternera, obteniendo un hidrolizado con propiedades funcionales interesantes.

En nuestro proyecto se buscan nuevas aplicaciones para el aprovechamiento de la gran cantidad de residuos óseos generados por la industria cárnica porcina, que excede sus aplicaciones y transformaciones tradicionales, en algunas zonas de España. Entre dichas aplicaciones está la extracción de proteínas óseas con interesantes propiedades funcionales, que pueden mejorar las características organolépticas de preparados alimentarios y tener aplicaciones en alimentos funcionales. Para esto, se debe caracterizar el subproducto como materia prima, establecer las condiciones necesarias para lograr un proceso óptimo de extracción de proteína de la mejor funcionalidad a partir de hueso de cerdo mediante enzimas neutras, estudiar la calidad, aplicaciones y alcance de esta proteína.

En el presente trabajo se resumen los resultados de la caracterización del sustrato y se presentan resultados preliminares de la hidrólisis enzimática.

MATERIALES Y MÉTODOS

Hueso de Cerdo.

La muestra fue suministrada por la **Cooperativa Agroindustrial de Guissona (Lleida – España)**, correspondiendo a hueso femoral de especímenes recién sacrificados, a los cuales se les ha retirado la carne en forma mecánica. El hueso se secó a 100°C bajo vacío y posteriormente se retiraron mecánicamente los últimos vestigios de tejidos asociados, según los métodos previamente establecidos (Aerssens, 1993; Aerssens, 1994), luego se pasó por un triturador y se molió, con tamaño de partícula de 0.4 mm. El polvo de hueso obtenido se empacó al vacío, en bolsas de 100 g y se conservó a -20 °C, para posteriores determinaciones.

Composición proximal.

La proteína cruda (N x 6.38) fue determinada por el método de *Dumas*, que consiste en la descomposición del compuesto con CuO, con lo que el nitrógeno de la muestra pasa a nitrógeno gas (N₂), los resultados fueron muy bien correlacionados al comparar con técnicas espectrofotométricas, para las mismas muestras. La humedad en la muestra de hueso molido, se determinó gravimétricamente después de 4 h a 105 °C según método de la AOAC (2005), las cenizas fueron determinadas según los procedimientos de AOAC (2005), los diferentes minerales fueron determinados en un espectrofotómetro ICP-EOS con tratamientos previos de ataque, según se indica en AOAC (2005), los lípidos totales fueron determinados por los métodos de Bligh y Dyer (1959), la determinación de la concentración proteica en el hidrolizado, los residuos sólidos y líquidos se realizó siguiendo la metodología de Bradford (1976).

Hidrólisis enzimática.

Para la hidrólisis se empleó la preparación enzimática grado alimenticio Neutrase® (Novozymes A/S Bagsvaerd - Dinamarca) 0.8 L, con una actividad enzimática declarada de 0.8 *Anson Unit/g* (AU/g), previa determinación de las condiciones óptimas de reacción para el sustrato específico. La reacción de hidrólisis se realizó en un bio-reactor *minifors* de 2 L, equipado con control automático de temperatura, pH, velocidad de agitación. Se resuspendieron 100 g de muestra en 1200 mL de agua, agitando a 450 rpm, dando inicio a la reacción mediante la adición de enzima una vez la temperatura fue de 50 °C y el pH de 7,0, la reacción tuvo una duración de 60 minutos y el pH se controló automáticamente entre 6.9 y 7.0 con la adición de una solución de NaOH 1 N. El progreso de la hidrólisis enzimática se siguió determinando el grado de hidrólisis y la concentración total de proteína cada 10 minutos. Finalmente la enzima se inactivó calentando durante 20 minutos a 90 °C, el residuo sólido se separa del sobrenadante por filtración al vacío, se precipitó la proteína hidrolizada con adición de ácido tricloroacético y se separó del residuo líquido por filtración al vacío.

Grado de hidrólisis.

El grado de hidrólisis fue determinado por el método potenciométrico (pH stat) y se definió como el cociente entre el número total de los enlaces peptídicos rotos sobre el número total de los enlaces peptídicos en la proteína, expresando el resultado como porcentaje (Adler-Nissen 1986).

Determinación de la distribución aparente de peso molecular.

La determinación de la distribución aparente de peso molecular se llevó a cabo en un equipo Bio-analizador Agilent 2100, siguiendo el protocolo diseñado por el fabricante para electroforesis de proteínas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización química.

La caracterización química del sustrato, fue importante para determinar la eficiencia de la hidrólisis enzimática de la proteína y de la recuperación de la misma respecto al sustrato inicial. En la Tabla 1 se presenta la composición proximal de la muestra de hueso molido, de su hidrolizado y del residuo sólido.

Tabla 1. Composición proximal de la muestra de hueso molido, la proteína hidrolizada cruda y el residuo sólido.

	Muestra total	Hidrolizado crudo	Residuo sólido
% Humedad	11.7	-	-
% Cenizas	40.5	0.01	59.2
% Grasa total	3.5	-	0.02
% Proteína total	30.3	89.4	8.3
% Carbono	28.9	86.1	8.8

Los resultados mostraron un buen porcentaje de proteína en la muestra inicial y un nivel relativamente bajo en el residuo sólido, lo que indicó un buen proceso de extracción e hidrólisis de la proteína presente en el hueso. También se observó un nivel de pureza alto en el hidrolizado crudo, lo que indicaría que al purificarlo se podría obtener una proteína de alta pureza.

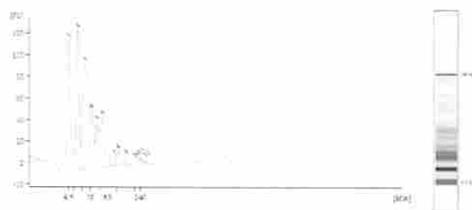
En la Tabla 2 se presentan los resultados de la composición mineral de las cenizas y el residuo sólido después de la hidrólisis enzimática de la proteína del hueso de cerdo, se observó que en general los niveles de macro nutrientes calcio (Ca), fósforo (P) y magnesio (Mg) fueron altos, así mismo como la presencia de fósforo en su forma soluble. La pérdida de minerales se puede considerar alta durante el proceso de hidrólisis, lo que sugirió que han sido solubilizados durante el proceso de hidrólisis lo cual abriría las puertas a su posible uso en procesos de fertilización de plantas, ya que - actualmente - la producción y uso de fertilizantes fosfatados de baja solubilidad representa una importante fuente de contaminación que afecta a la salud pública y al entorno ambiental.

Tabla 2 Composición mineral de las cenizas y el residuo sólido después de la hidrólisis enzimática de la proteína del hueso de cerdo, los datos se expresan en base seca.

Mineral	Ceniza de Hueso	Residuo sólido
Calcio %	30.5	16.7
Potasio %	0.69	0.09
Magnesio %	0.68	0.39
Sodio %	3.89	0.77
Azufre %	0.27	0.17
Zinc ppm	300	186
Fósforo %	19.1	11.1
Fósforo soluble en citrato de amonio %	4.2	4.2
Fósforo soluble en agua %	0.28	0.19

Distribución aparente de peso molecular.

En la Figura 1 y su tabla de datos, se muestra el electroferograma de la proteína hidrolizada donde se observa una alta distribución de péptidos de bajo peso molecular, entre 10 y 20 kDa y una distribución menor pero importante entre 30 y 50 kDa. La presencia de una cantidad mínima de péptidos entre 100 y 200 kDa posibilitaría la estabilización de las emulsiones a formar. Esta distribución de pesos moleculares coincidió con el grado de hidrólisis encontrado de entre 15 y 20 %. Dicha distribución está de acuerdo con los posibles usos como emulsificante y dispersante en preparación de salsas y sopas.



Pico	Tamaño (kDa)	Conc. Calib. (ng/l)	% Total	Observaciones
1	4.5	-	-	Marcador Peso Molecular inferior
2	10.2	4.525	46.1	
3	18.9	2.677	27.3	
4	30.4	703.9	7.2	
5	40.5	524.4	5.3	
6	51.3	962.7	9.8	
7	88	91.4	0.88	
8	100.1	207.1	2.1	
9	124.8	68.9	0.79	
10	154.5	60	0.69	
11	240	-	-	Marcador Peso Molecular superior
12	333	-	-	No cuantificado

Figura 1. se muestra el electroferograma del hidrolizado de proteínas.

CONCLUSIONES:

Desde el punto de vista del contenido mineral la muestra de hueso y el residuo del hidrolizado presenta unas concentraciones que podrían ser promisorias para su uso como fertilizantes en plantas.

En cuanto al contenido de proteínas, es suficientemente alto como para obtener un buen rendimiento con un hidrolizado adecuado. Se produjo un hidrolizado de dicha proteína con un grado de entre 15 y 20 por ciento y una distribución de pesos moleculares adecuada para su uso como emulsificante y espesante, entre otros.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al Ministerio del Medio Ambiente, Expediente 521/2006/3-8.2, por la financiación del proyecto de investigación.

Ricardo Benítez agradece a Conciencias-Colombia por el financiamiento para su programa doctoral

BIBLIOGRAFIA.

- A.O.A.C. Official Methods of Analysis of A.O.A.C International (2005) 18th ed., A.O.A.C International, Gaithersburg, MD, USA.
- Aeressens J, Van Audekercke, Talalaj M, Van Vlasselaer P, Bramm E, Geusens P, Dequeker J 1994 Effect of 1a-vitamin D3 on bone strength and composition in growing rats with and without corticosteroid treatment. *Calcif Tissue Int* 55:443-450
- Aeressens J, Van Audekercke R, Geusens P, Schot LPC, Osman AA, Dequeker J 1993 Mechanical properties, bone mineral content, and bone composition (collagen, osteocalcin, IGF-I) of the rat femur: influence of ovariectomy and nandrolone decanoate (anabolic steroid) treatment. *Calcif Tissue Int* 53:269-277
- Adler-Nissen, J. 1986. *Enzymic hydrolysis of food proteins*. Elsevier Applied Science Publishers, Londres, Reino Unido.
- Bligh, E.G. and Dyer, W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 38, 911-917.
- Bradford MMA rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilising the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72:248-254 (1976).
- Duerr, P. E. y M. D. Earle. 1973. The utilization of bones. *Food Technology New Zealand*, 6: 28-31.
- Estadística i Conjuntura Agraria. 2002. 182-183.
- Jobling, A. 1986. Recovery and utilization of edible protein from abattoir by-products. En *Developments in Food Proteins - 4* (ed. B. J. F. Hudson), págs. 37-55. Elsevier Applied Science Publishers, Londres, Reino Unido.
- Linder, M. J. Fanni y M Parmentier. 1996. Functional properties of veal bone hydrolysates. *Journal of Food Science*, 61: 712-716.
- Novo Industri. 1979. Method for detection on residual proteolytic activity 195a-GB. Novo Industri, Bagsvaerd, Dinamarca.
- Kammoun, R., Bejar, S, Ellouz, R., Protein size distribution and inhibitory effect of wheat hydrolysates on Neutrase. *Bioresource Technology* 90 (2003) 249-254
- Webster, J. D., D. A. Ledward y R. A. Lawrie. 1982. Protein hydrolysates from meat industry by-products. *Meat Science*, 7: 147-157.

CINETICAS ENZIMATICAS COMPARATIVAS DE LAS ACTIVIDADES PROTEOLITICAS DE PRODUCTOS COMERCIALES UTILIZANDO LATEX DE PAPAYA (*Carica Papaya*) PARA LOGRAR EL ABLANDAMIENTO DE LA CARNE.

Ramírez Espinosa, Karla; Cruz y Victoria, María Teresa y Soriano García, Manuel.
 INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL, ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS.
 DEPARTAMENTO DE GRADUADOS E INVESTIGACIÓN EN ALIMENTOS
 Pról. De Carpio y Plan de Ayala S/N, Tel: 55320538, 57296000 ext.
 62376, 62381, Fax: 57296300 ext. 62477, karfrance@hotmail.com
 DISTRITO FEDERAL – MEXICO.

Palabras clave: cinéticas enzimáticas, actividad proteolítica, papaína, y unidades de tirosina.

RESUMEN.

A través de la historia, el consumo de carnes como alimento ha mantenido una posición primordial, tanto social como económica. Los productos cárnicos, pueden variar dependiendo de la raza que se trate, y con ello varía el contenido de colágeno y proteínas miofibrilares. Estas especies cárnicas que presentan más contenido de estas proteínas son sometidas a distintas técnicas de hidrólisis, como el uso, de ácido cítrico; acético y láctico, que favorecen la solubilidad de proteínas reduciendo su termoestabilidad, lo que favorece la suavidad de las carnes.

La suavidad, es una de las características más importantes, en el aspecto sensorial de la carne. Una ventaja que se puede obtener, al utilizar carne endurecida, es el uso de ablandadores de carne a base de enzimas proteolíticas que actúan sobre los tejidos conectivos y conjuntivos, sin causar degradación excesiva de las proteínas miofibrilares.

Para la hidrólisis enzimática sobre la carne se han utilizado diversas enzimas como la papaína, la bromelaina, la hemisfericina, etc; encontrando que cada una tiene una actividad específica sobre el músculo. La papaína esta en el látex de la papaya verde (*Carica Papaya*) y es la que se emplea con mayor frecuencia en los ablandadores artificiales.

En el presente trabajo, se utilizó, la enzima "papaína" del látex de papaya como materia prima para observar su cinética enzimática y poder ser comparada su actividad proteolítica con los ablandadores para carne que existen comercialmente, teniendo como resultado, diferentes cinéticas enzimáticas para cada producto indicando que a medida que aumenta el tiempo de reacción; la actividad proteolítica de la enzima presente, se ve incrementada.

INTRODUCCIÓN.

La NOM-009-Zoo-1994, define a una animal de abasto, a todo aquel que se destina al sacrificio como bovino, ovino, caprino, porcino, aves, equino o cualquier otra especie destinada al consumo humano. También define como carne, a la estructura compuesta por fibras musculares estriadas, acompañadas o no de tejido conjuntivo elástico, grasa, fibras nerviosas, vasos linfáticos y sanguíneos, de las especies animales autorizadas para el consumo humano.

Las Proteínas de la carne se dividen en tres grupos, mostrados en el siguiente Cuadro 1.

Estas proteínas constituyen aproximadamente el 20 % en peso de la carne. Las proteínas más importantes de estas tres son las miofibrilares que están constituidas por la actina y la miosina y son las responsables de la retención de humedad y grasa en productos cárnicos. (Forrest y col., 1979).

Proteasa

Las proteasas hidrolizan los enlaces peptídicos de proteínas y polipéptidos para producir pequeños péptidos y aminoácidos. Estas enzimas varían ampliamente en su especificidad por el sustrato y en el pH óptimo. Las enzimas proteolíticas son

empleadas en la industria para crear cambios en productos, como textura y apariencia. (Vioque y col., 2000).

Los ablandadores artificiales han incluido una combinación de productos y enzimas de plantas, que hacen posible el ablandamiento de la carne, logrando cortarla con mucha más facilidad y en partes mucho más pequeñas, logrando partir sin dificultad los tejidos conectivos en donde la carne es más dura (Chau-Mei y col., 2002). Dicho ablandamiento, se puede representar químicamente mediante la medición de la actividad proteolítica que ejerce una enzima específica sobre su sustrato. La actividad proteolítica de una enzima se mide en unidades de tirosina.

Cuadro 1. Proteínas presentes en la carne.

PROTEINAS PRESENTES	PORCENTAJE (g/100 g)
Sarcoplasmáticas	35%
Miofibrilares.	50%
Tejido conjuntivo.	15%

(Forrest y col. 1979)

Papaína.

Las plantas son una fuente tradicional de un gran número de enzimas para distintos usos a nivel mundial. A partir del látex de papaya principalmente se han aislado proteasas.

La papaína es una proteasa sulhidrítica que es usada principalmente en procesos como la elaboración de cerveza, el ablandamiento de la carne y como ayuda digestiva. El término papaína se aplica a la enzima de la preparación cruda del látex de la papaya (*Carica papaya*L.).

La papaína y la quimopapaína son las principales proteasas del látex de papaya. (Glibota y col., 2000).

OBJETIVO GENERAL.

El objetivo de este trabajo es el de comparar las actividades proteolíticas de ablandadores de carnes comerciales, con un blanco de papaína del látex de papaya, para que la actividad enzimática fuera similar a la de los ablandadores comerciales.

MATERIALES Y MÉTODOS.

Materia prima.

* Enzimas: Papaína de látex de papaya (sigma EC 3.4.4.10, preparación cruda).

* Marca de Ablandadores. A, B y C* Caseína tipo Hemerstein Merk (como sustrato natural).

Equipo y material de laboratorio.

*Espectrofotómetro UV (Spectrum/ 206-62029-04/ SHIMADZU).

* Baño de agua María a 35 C. (Lab-Line Instrument, Inc. Melrose Park, Illinois).

* Balanza Granatária Ohaus.

* Material de Laboratorio (vidrio y plástico).

Equipo y material de laboratorio.

- *Espectrofotómetro UV (Spectrum/ 206-62029-04/ SHIMADZU).
- * Baño de agua María a 35 C. (Lab-Line Instrument, Inc, Melrose Park, Illinois).
- * Balanza Granatária Ohaus.
- * Material de Laboratorio (vidrio y plastico).

Metodología

Determinación de la actividad proteolítica. (Método de Kunitz modificado por Ortega y del Castillo, 1966). El método se basa en el cambio de solubilidad de una proteína en acido tricloroacético (ATC) cuando esta sujeta a la acción de una enzima proteolítica.

Actividad proteolítica en función del tiempo. Se prepara una serie de tubos que se incuban en un baño de agua a 35 °C . El tiempo de reacción será de 10, 15, 30,120 y 180 minutos. Para suspender la hidrólisis se agregan 3 ml de acido tricloroacético (ATC) al 5 %, precipitando las proteínas y desnaturalizando la enzima quedando en solución aminoácidos libres y péptido. Se realiza un testigo, y todo se hace por triplicado.

Preparación de los extractos de ablandadores Comerciales. Se pesan 10 gramos de cada uno de los ablandadores comerciales (A,B y C) , se mezclan con 20 ml de regulador de fosfatos pH 7-6, en cada tubo de ensayo y se mezcla bien el producto. Se refrigeran durante 48 horas, se filtran con papel filtro para obtener una solución transparente y se procede a congelar para su uso posterior. Los ablandadores comerciales tendrán las mismas condiciones de acuerdo a la temperatura de 35°C y los tiempos de reacción.

Preparación del ablandador para Carne con látex de Papaya al cual se le nombro "Karisa". Se va a utilizar papaína de látex de papaya. El producto se preparó al 1% con sal refinada.

Elaboración de la curva tipo de tirosina. A partir de una solución que contenga tirosina en una concentración de 500 µmoles/mL (la solución debe contener 2 partes de regulador de fosfatos pH 7.6, 0.05 M y tres partes de ATC al 5 %). Para leer en el espectro se tiene que ajustar con la mezcla de ATC 5% con regulador de fosfatos pH 7.6 y utilizando las celdas de cuarzo. Con los resultados obtenidos se realizan los cálculos pertinentes de densidades ópticas de las muestras.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Curva tipo de tirosina. En la Figura 1, se obtuvo una ecuación lineal la cual se usa para interpolar y así poder determinar los moles de tirosina liberados en la actividad proteolítica, en los diferentes ablandadores de carne así como también con el testigo.

Actividad proteolítica en unidades de tirosina liberadas por cada marca de ablandador comercial A, b y C en función del tiempo.

Para entender mejor el comportamiento de los tres diferentes marcas de ablandadores para carne, se realizo un promedio global por cada lote de cada marca de ablandador (A, B, C) de sus correspondientes UT con cada tiempo correspondiente, y así obtener el Cuadro 2, donde esta marcado con negrita las actividades proteolíticas (UT) de mayor valor. En la Figura 2 se presenta el comportamiento de sus cinéticas enzimáticas de estos ablandadores comerciales para carne en sus unidades de tirosina liberados en función del tiempo.

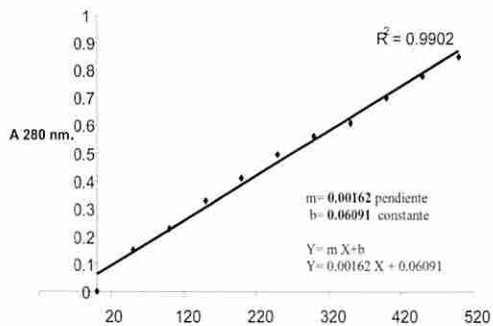


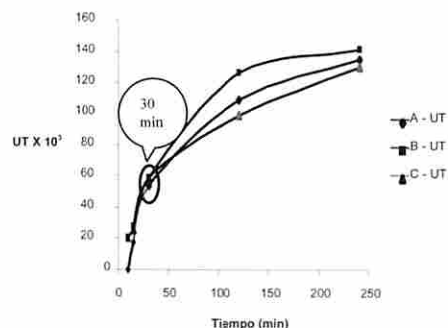
Figura 1 Curva tipo de tirosina

$$\mu\text{g/mL de tirosina liberados}] = \frac{A_{280} - 0.06091}{0.00162} \times 1812$$

Cuadro 2. Actividad proteolítica de los diferentes ablandadores comerciales.

Tiempo (min)	A - UT*	B - UT*	C- UT*
10	1.64	20,515	20,224
15	17141	27,263	25,306
30	53,548	58,255	58,671
120	108,532	126,486	98,494
240	134,484	141,149	129,735

UT* = µg Tir / ml



Cas1 %, Temp 35°C, pH 7.6, 0.05M.

Figura 2. Actividad proteolítica en unidades de tirosina (µg Tir/ml) por peso para cada marca de ablandador de carne comercial en función del tiempo de reacción.

En esta Figura 2 se puede observar, la relación que hay entre un ablandador y otro (A,B y C) se puede concluir, que el ablandador "B", es el que presento mayor actividad proteolítica por peso en unidades de tirosinas liberadas, mientras que "C", es el de menor actividad, indicando que el mejor producto para lograr un ablandamiento adecuado de carne es el ablandador "B", sin embargo, "C", es el que presento mejor relación entre sus resultados de los tres diferentes lotes, es decir, que proyecta mejor elaboración a grandes escalas de este producto, debido, a que están muy bien mezclados todos los lotes con la misma

En esta Figura 2 se puede observar, la relación que hay entre un ablandador y otro (A,B y C) se puede concluir, que el ablandador "B", es el que presento mayor actividad proteolítica por peso en unidades de tirosinas liberadas, mientras que "C", es el de menor actividad, indicando que el mejor producto para lograr un ablandamiento adecuado de carne es el ablandador "B", sin embargo, "C", es el que presento mejor relación entre sus resultados de los tres diferentes lotes, es decir, que proyecta mejor elaboración a grandes escalas de este producto, debido, a que están muy bien mezclados todos los lotes con la misma cantidad de látex de papaya. Con respecto al ablandador "A" se sugiere que es un producto, intermedio en su actividad proteolítica. Sin embargo, en el tiempo 30 minutos, no hay diferencia significativa de sus actividades.

Determinación de la actividad proteolítica del ablandador para carne con látex de papaya de marca propia "Karisa" en función del tiempo de reacción.

Se determinó la actividad proteolítica, en función del tiempo de reacción, del ablandador para carne "Karisa" que se elaboró en el laboratorio de enzimología del departamento de alimentos de la escuela nacional de ciencias biológicas ENCB-IPN- México. En el Cuadro 3, se presentan los resultados de la actividad proteolítica de dicho ablandador, en unidades de tirosina (µg Tir/ ml), en función del tiempo de reacción. En la Figura 3, se representa la cinética enzimática de los resultados de las actividades proteolítica en UT comparativamente de las tres marcas de ablandadores comerciales para carne (A,B, C y Karisa).

Cuadro 3. Actividad proteolítica en unidades de tirosina del ablandador "Karisa" en función del tiempo de reacción.

Tiempo (min)	UT (µg Tir / ml)
10	7280
15	20,926
30	26,631
120	65,555
240	84,682

*: pH 7.6; Temperatura (35 °C); sustrato (Cas 1%).

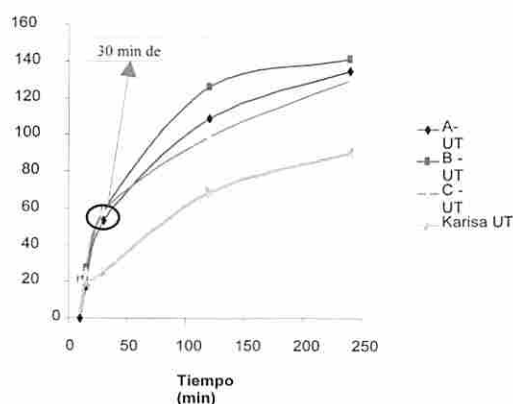


Figura 3. Actividad proteolítica en unidades de tirosina (µg Tir/ ml), en función del tiempo de reacción, de las cuatro marcas de ablandadores comerciales para carnes.

En esta Figura 3, se puede observar, que la cinética del ablandador "Karisa", es menor a comparación de los otros tres ablandadores Comerciales, es decir, que presenta niveles liberados de unidades de tirosina en menor cantidad, aproximadamente del 20-40 % de diferencia de los ablandadores A, B y C . Tomando en cuenta que se preparo

"Karisa", como se supone, están preparados los ablandadores comerciales al 1% y las causas de estas diferencias que se muestran en la Figura 4, podrían las siguientes a considerar: que el látex ocupado para la preparación de Karisa 1%, tenga menor actividad, o, que los ablandadores comerciales tengan un látex mas activo y que tenga mayor cantidad de látex en sus preparaciones.

Lo importante de esto, es que tanto los tres ablandadores comerciales y el ablandador "karisa", siguen una misma cinética enzimática directamente proporcional al aumento del tiempo en minutos con respecto a su contenido de Unidades de Tirosina liberadas, observando en la Figura 3, que los tres ablandadores comerciales A, B y C, al minutos 30, no presentan una diferencia significativa de sus UT liberadas, esto es importante, debido a que comercialmente el tiempo de reacción que se deja una carne marinar con un ablandador para originar su suavidad es de 15-30 minutos, concluyendo, que los cuatro ablandadores para carnes, cumplen con el objetivo, de presentar una actividad proteolítica, que se llevaría a cabo en las miofibrillas de la carne en forma de hidrólisis enzimática.

CONCLUSIONES

*La actividad de las enzimas proteolíticas, como la papaina, tienen un efecto muy importante sobre las proteínas de la carne, logrando su hidrólisis medida en unidades de tirosina liberadas en función del tiempo de reacción.

*Se obtuvo que la actividad proteolítica de los diferentes ablandadores para carnes tienen un comportamiento muy similar, con respecto al tiempo, se observa el que posiblemente es de mejor calidad de acuerdo a su actividad pteolítica, es el ablandador B, mostrando una curva mayor que las otras tres, incluyendo a karisa (látex de papaya). Pero con respecto a la mejor calidad de elaboración de sus procesos unitarios, es el ablandador "C", ya que este es el que presento mejor homogeneidad en sus resultados.

*De acuerdo con los resultados de la actividad proteolítica de la papaina se observa que va aumentando de acuerdo a los diferentes tiempos de reacción, pero esta actividad es proporcional a la concentración de papaina (mg) mezclados para esta reacción.

*Con esto se puede decir que para igualar la actividad y saber un aproximado de concentración de papaina en un ablandador, se tendría que aumentar mas la concentración de la papaina o viceversa disminuir la concentración en los ablandadores, para obtener graficas semejante.

AGRADECIMIENTOS. Este proyecto se realizo con el apoyo de la beca PIFI y CONACYT.

BIBLIOGRAFÍA

*Chuan -Mei Yeh.; Ming- Chuai Yang and Ying - Chien Tsai. 2002. Application Potency of Engineered G159 Mutants on P1 Substrate pocket of Subtilisin Yab as Improved Meat Tenderizers. J. Agric Food Chem, 50, 6199-6204.
 *Forrest, John; Elton D. Aberle; Harold B. Hendrick. 1979. Fundamentos de Ciencia de la carne. Editorial Acriba...pp. 251-260.
 *Glibota, G; Garro, O and Judis,M. 2000. Actividad Proteolítica de Restos del Fruto de Carica papaya. Facultad de Agroindustrias.
 *Ortega,L.D.M., y del Castillo,L.M. 1966.Actividad de la mexicaína en presencia de altas concentraciones de Urea. Ciencia Mex.24:1.
 *Tappel.K.; Cooper.; Fang.s.H.1962. Dosage du collagene dans les tissues conjonctifs, la viande et les produits carnes. Viande et produits Carnés.7: 263-266
 *Vioque, J.; Sanchez- Vioque, R.; Clemend, A.; Pedronne, J.; Millan, F. 2000. Partial Hidrolysed rappedseed proten isolates with improved functional properties. J. Alim. Oil. Chem. Soc., 77, 447-450.

PROPIEDADES FUNCIONALES DEL BETABEL (*Beta vulgaris*) DESHIDRATADO POR CONVECCION FORZADA

José-Alberto Gallegos-Infante^(a), Luis Medina-Torres^{*(b)}, Nuria-Elizabeth Rocha-Guzman^(a)

^(a) Departamento de Ingenierías Química y Bioquímica, Instituto Tecnológico de Durango, Blvd. Felipe Pescador 1830 Ote, Col. Nueva Vizcaya, Durango, Dgo., México, Tel. 618- 8-18-69-36. e-mail jjinfante@itdposgrado-bioquimica.com.mx

^{*(b)} Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 México, D.F. Tel.. (55) 56225360. e-mail: luismt@servidor.unam.mx

Palabras clave: Betabel, Propiedades funcionales, Secado, Reología.

RESUMEN

El betabel es una planta que ha sido usada para el consumo humano como alimento en la medicina naturista dando ventajas por su contenido de fibra dietética (soluble e insoluble) y en consecuencia en formulaciones nutricionales. Además, el betabel es usado como colorante, donde las betalainas son ampliamente empleadas en formulaciones alimenticias (por ej., en la formulación de vinos). El objetivo de este trabajo fue determinar la influencia del proceso de secado por convección forzada respecto a sus propiedades funcionales resultantes con posibles aplicaciones industriales. Evaluando tanto la capacidad de retención de agua, adsorción de aceite, capacidad de hinchamiento, así como sus propiedades reológicas en dispersiones al 3 % (p/v). Las mejores propiedades funcionales obtenidas fueron secando el betabel a temperaturas de 45°C a cualquier flujo de aire (3 y 5 m/s). Los resultados indican que el betabel tiene una gran capacidad de hinchamiento comparado con otras fibras comerciales y además, las dispersiones acuosas al 3 % del betabel deshidratado presentaron un comportamiento de carácter no Newtoniano del tipo de adelgazamiento a la cizalla en todas las muestras, esto probablemente debido al método de secado y a la gran cantidad de fibra insoluble contenida en la muestra resultante.

INTRODUCCIÓN

Una planta originaria del continente americano y ampliamente distribuida en el altiplano mexicano, es el betabel de la familia *Chenopodiaceae*, de cultivo anual o bianual, sus raíces se dividen en cuatro clases; achatadas, ovaladas, semi largas y larga cónica, de acuerdo con su color las plantas se dividen en rojo y amarillo. Sus raíces están bien desarrolladas, de raíz globosa, algo aplastada y de forma variable, según las variedades. La producción del betabel se da en la mayoría de las variedades de climas tropicales, aunque las altas temperaturas evitan el desarrollo de raíces de buena calidad, de aquí que es esencial obtener la cosecha en un lugar fresco con temperaturas medias de 15-18 °C. Se desarrolla mejor en un suelo cuya acidez fluctúa entre un pH 6-7. Un suelo profundo, desmenuzable es más conveniente para el betabel que para muchas otras hortalizas. El betabel además de emplearlo como alimento fresco se ha empleado como colorante, donde las betalainas son ampliamente empleadas en alimentos y se ha reportado que el jugo de la hierba del carmín fue usada como un colorante en vino desde tiempo prehispánicos, ya que le impartía un color rojo mas deseable. En la práctica el uso del betabel como colorante en la industria de alimentos no es nuevo y de cualquier modo estuvo fuera de la ley y se consideraba como adulteración. Lo interesante del betabel es que el producto procesado (por ejemplo, secado) conserva a condiciones adecuadas de secado casi las mismas propiedades funcionales (sabor y color) que el producto fresco. Por otro lado, el betabel ligeramente seco es una buena fuente de nutrimentos, si no es que mejor que el producto crudo. Contiene mayor cantidad de minerales, incluyendo potasio (el que regula el ritmo cardiaco y mantiene normales la presión arterial y el sistema nervioso) y el nivel de la mayoría de las vitaminas se mantiene

igual, incluyendo la vitamina C, y solamente hay una pequeña pérdida de ácido fólico. Sin embargo, la cultura del consumo de betabel crudo en nuestro país nos ampliamente usado, y la mayoría prefiere cocerlo y/o secarlo. Por lo que, una alternativa interesante y prometedor es la deshidratación del betabel, observado que los hidratos de carbono son los componentes más abundantes, lo que lo hace que ésta sea una de las plantas más ricas en azúcares y una buena fuente de fibra natural y adicionalmente, preserva sus vitaminas y los compuestos fólicos. El objetivo de este trabajo es estudiar un proceso de deshidratación por convección forzada y analizar las propiedades funcionales resultantes, como una alternativa de fuente de fibra, con potencial interés en la industria de alimenticia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

El Betabel (*Beta vulgaris*) fue obtenido de un mismo lote (Celaya; Guanajuato, México) y una misma época de cosecha, de tamaño aproximado de 7 cm de largo y cortado con un espesor de 2 cm. Las muestras que se trabajaron presentaron el mismo estado de madurez, espesor y tamaño, a fin de evitar variables adicionales que afecten el proceso de secado, tales como, contenido de humedad (H inicial, 89.259%), % de sólidos (10.74%).

Método de secado

Secado por convección forzada

El betabel fue secado a diferentes condiciones de temperatura y flujo de aire (45, 55, 60 °C y 3, 5 m/s, respectivamente) en un secador de charolas con resistencias eléctricas, Mod. SSE70. Posteriormente, fue molido y tamizado con un tamaño de malla 100. El área de transferencia de calor utilizando en los cálculos fue de 0.0578m² y la humedad libre inicial de 89.259%, % de sólido (Carbohidratos, proteínas y grasas) 10.74%.

Tratamiento de datos

La transferencia del calor hacia el interior del betabel depende del gradiente de temperatura entre la superficie y el agua en el interior de este, ya que al suministrar la energía suficiente, el cambio de fase se realiza del interior hacia la superficie y controlados por mecanismos convectivos principalmente. Con la finalidad de definir claramente los periodos constante y decreciente, o bien la tendencia del flux de secado (Na). Los datos experimentales, X* (humedad en base seca) versus tiempo, fueron tratados matemáticamente como una función continua. Esto evita obtener valores de Na con fluctuaciones altas, tales como los que se obtienen al emplear un operador delta (Δ) para estimar la derivada en la ecuación (1), dada por:

$$Na = (-Ls / area) \cdot \left(\frac{dX}{dt} \right) \tag{1}$$

Donde, dt es la derivada del tiempo, dX es la diferencial de la humedad en base seca.

Determinación de las propiedades funcionales en el nopal deshidratado

Capacidad de retención de agua, (CRA). Se colocaron 0.5 g de muestra en un tubo para centrifuga, previo registro del peso de cada tubo, se adicionó agua desionizada (5mL) y se agitó por un minuto. Finalmente se colocó en una centrifuga a una velocidad de 3000 rpm por 15 min y se retiró el sobrenadante, se pesó, y por diferencia se obtuvo el peso del líquido retenido el cual se expresó en gramos de agua/ gramo de muestra.

Capacidad de hinchamiento, (CH)

Se colocó 0.25 g de muestra en los tubos de centrifuga y se les adicionó 10 mL de agua. 24 h después se tomó la lectura del volumen adquirido y se reportó en mL / g de muestra.

Capacidad de absorción de aceite, (CAA)

Se colocó 1 g de muestra en los tubos de centrifuga (pesados) y se les adicionó 10 g de aceite de maíz. Se agitaron por un minuto. Finalmente se colocaron en una centrifuga a una velocidad de 3000 rpm y se retiró el sobrenadante.

Viscosidad de las dispersiones de betabel deshidratado

Todas las estimaciones de viscosidad (η) en las dispersiones preparadas del betabel deshidratado fueron al 3% (p/v) a 25°C y se realizaron en un reómetro rotacional (CarriMed) usando una geometría helicoidal adaptada para sistemas heterogéneos (Brito *et al.*, 1998) y un baño de control de temperatura (Haake, Modelo F3T).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las Figura 1 y 2, se presenta la pérdida humedad libre en base seca con respecto al tiempo (X^* vs. t) para las condiciones de estudio, así como el flux de secado respecto a la humedad libre en base seca.

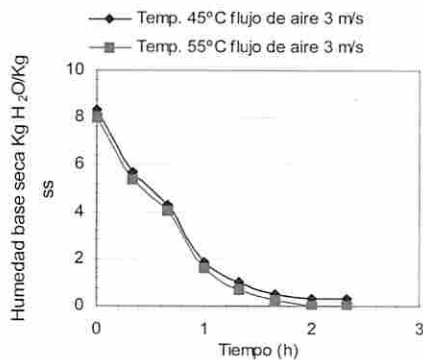


Figura 1. Curvas de evolución de pérdida de humedad de secado según diseño experimental

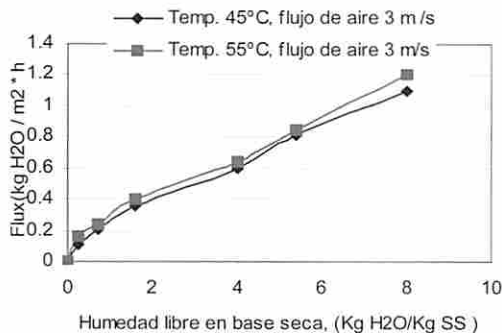


Figura 2. Curvas de velocidad de secado según diseño experimental.

Estos resultados sugieren que, las mejores condiciones de secado fueron a bajas temperaturas (ver Figura 1) y que el proceso de secado se lleva a cabo, en su mayoría, en el periodo de velocidad decreciente, lo cual se refleja en la velocidad de evaporación de humedad en la superficie del material y en el intervalo de tiempo (N_a). Observando que estas muestras deshidratadas a estas condiciones conservan las demás propiedades inherentes al material (funcionales). Además, también se observa un incremento en la pérdida de humedad a un incremento de la temperatura (>55 °C y a una velocidad de aire (>5 m/s), estos cambios en las cinéticas de secado se ven reflejados en la respuesta de las propiedades funcionales de las muestras de betabel deshidratado.

En la Figura 3 se observa que, para las muestras deshidratadas relación CRA/CRA0 fue mayor a una temperatura de 45°C, es decir se presentan una mayor retención de humedad independientemente del flujo de aire de 3 y/o 5 m/s. Para el caso de las muestras deshidratadas a una temperatura de 55°C la retención de humedad fue mucho menor comparada con la temperatura de secado de 45°C. De manera similar, para el caso de la capacidad de hinchamiento (CH/CH0) las muestras deshidratadas a 45°C y flujo de aire 3 m/s fueron ligeramente mayores en comparación con las muestras deshidratadas a temperatura mas altas (55°C). Lo anterior, es importante si se desean aprovechar las mejores propiedades funcionales del producto deshidratado en formulaciones dietéticas (elaboración de fibras) y se ha observado en resultados preliminares que conservan sus demás propiedades funcionales (ácido fólico, vitamina B, C y otro antioxidantes) esto le da un plus a este tipo de posibles formulaciones alimenticias.

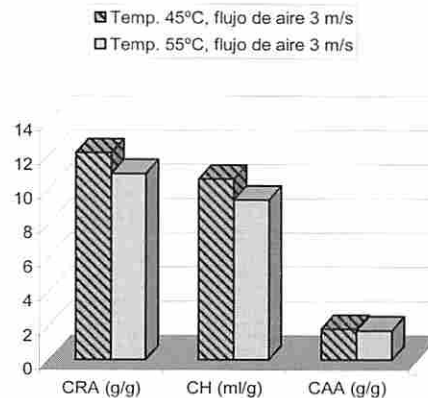


Figura 3 Relación de propiedades funcionales del betabel deshidratado a las diferentes condiciones.

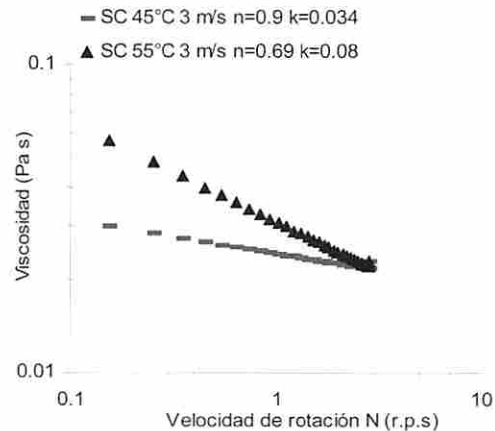


Figura 4 Curva de viscosidad a 25°C del betabel deshidratado al 3% (p/v).

Finalmente, las propiedades reológicas en el caso de formulaciones dietéticas de sumo interés es su viscosidad que estas presentan en estos productos, principalmente en los medios acuosos donde esta interviene. Las curvas de viscosidad (ver Figura 4) de las diferentes muestras deshidratadas al 3% (p/v) presentaron tanto a 45°C como 55°C presentaron un comportamiento no Newtoniano del tipo de adelgazamiento a la cizalla ($n < 1$), con una mayor consistencia a temperaturas menores a 55 °C en comparación a la de las muestras obtenidas a mayores temperaturas 55°C, estos resultados concuerdan con los resultados de la CRA (sensación de satisfacción en el organismo, mayor viscosidad). Además, el índice de comportamiento al flujo (n) para las muestras estudiadas a todas las estas condiciones de secado por convección forzada presentaron un comportamiento similar de adelgazamiento a la cizalla ($n < 0.8$) (Ver Tabla 1). Con base a lo anterior, este tipo de formulaciones acuosas a partir de estas condiciones de secado, resulta benéfico en las formulaciones dietéticas. Las propiedades funcionales del betabel deshidratado a estas condiciones de secado convectivo, presentan una alternativa de atributos funcionales que podrían ser de interés en la formulación alimenticias, posiblemente como una alternativa de fuente de fibras naturales, además de que a estas condiciones de secado conservan compuestos similares a los del producto fresco y algunos agentes antioxidantes.

Tabla 1 Parámetros obtenidos de las curvas de viscosidad

Parámetros reológicos (modelo ley de la potencia, $\eta = k \cdot \dot{\gamma}^n$)	n (-)	k (Pa S)
Secado Convectivo 55°C y 3 m/s	0.6758	0.08126
Secado Convectivo 55°C y 5 m/s	0.8909	0.033976
Secado Convectivo 45°C y 5 m/s	0.4822	0.34626
Secado Convectivo 45°C y 3 m/s	0.6178	0.176966

CONCLUSIONES

En el método de secado convectivo, el flux de secado (N_a) presentó una dependencia de la temperatura. Las muestras deshidratadas a una temperatura de 45°C con flujo de aire de 3 m/s, presentaron mejores propiedades funcionales finales (CRA, CAA, CH y η) respecto a las demás condiciones de secado estudiadas. Las dispersiones de betabel deshidratado presentaron en todos los casos un comportamiento no Newtoniano del tipo de adelgazamiento a la cizalla ($n < 1$) y con mayor consistencia respecto a fibras comerciales. Las propiedades funcionales del betabel deshidratado por el método de secado convectivo generaron una amplia gama de atributos funcionales de interés en la formulación de productos alimenticios como lo son las fibras naturales, además de que conservan los compuestos iniciales del producto fresco y de algunos antioxidantes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Guerra Deban. 1979. Curva de humedad del bagazo en equilibrio con el aire. Revista Actualidades Científico-Técnicas. Ingeniería Química. N°1. Septiembre.
- Barrera G. D. 2003. Efecto de dos tipos de fibra dietética en la excreción de lípidos en los niveles plasmáticos de colesterol y triglicéridos en ratas. Tesis, Facultad de Química UNAM. 67 p.
- Brito- De La Fuente, E.; Nava, A., López, L. M.; Medina, L.; Ascanio, G. and Tanguy, P. A. 1998. Process Viscometry of Complex Fluids and Suspensions with Helical Ribbon Agitators. The Canadian Journal of Chemical Engineering; 76: 689-697.
- Ortega Carrillo Alonso. 2004. Estudio de secado convectivo y osmótico aplicados a nopal (*Opuntia spp.*) y efectos en las propiedades mecánicas; Tesis Licenciatura, Facultad de Química, UNAM. 76 p.
- Villegas María De Lourdes. 1970. Tesis de Licenciatura de Obtención de colorantes a partir del Betabel. Facultad de Química. UNAM. 35-42, 59 p.
- Pearson. 1996. Composición y análisis de alimentos. Compañía Editorial Continental. México. pp. 264

REOLOGÍA Y MICROESTRUCTURA DE κ -CARRAGENINA BAJO DIFERENTES CONFORMACIONES INDUCIDAS POR DIVERSAS CONCENTRACIONES DE IÓN POTASIO

Núñez-Santiago, María del Carmen^a; Tecante, Alberto^b; Garnier Catherine^c y Doublier, Jean Louis^c
^aCentro de Desarrollo de Productos Bióticos – IPN. Km 8.5 Carr. Yautepec-Jojutla, Yautepec Morelos, 62731, MÉXICO. mnunez@ipn.mx, tel (52)-(735)-3941896; fax: (52)-(735)-3942020
^bDepartamento de Alimentos y Biotecnología. Facultad de Química “E”–UNAM. Ciudad Universitaria. México, D.F., 04510, MEXICO.
^cUnité de Recherches sur les Biopolymères, Interactions, Assemblages, INRA, rue de la Geraudière, 44316 Nantes Cedex 03, FRANCE

Palabras clave: Biotecnología de alimentos, κ -carragenina, viscoelasticidad, transición orden-desorden,

RESUMEN

En este trabajo se usaron técnicas de reología, microcalorimetría de barrido diferencial y microscopía confocal de barrido láser para estudiar el efecto del ión potasio sobre el comportamiento viscoelástico, la transición orden-desorden y la ultraestructura de κ -carragenina en medio acuoso bajo diferentes conformaciones a 60, 25 y 9 °C. El comportamiento reológico de κ -carragenina 0.5% a 60 °C, cuando el polímero se encuentra en una conformación de hebra aleatoria, fue típico de un líquido viscoelástico, en estas condiciones un incremento en la concentración del ión K^+ de 0 a 60 mM disminuyó el módulo complejo de la viscosidad. En geles de κ -carragenina 0.5%, un incremento en KCl de 0 a 300 mM KCl produjo un incremento en la rigidez de los geles, sin embargo, por arriba de 100 mM KCl, el incremento fue marginal. La transición orden-desorden de κ -carragenina se observó por reología y microDSC. La microscopía mostró una red tridimensional donde la continuidad depende de la concentración del polisacárido y la concentración de iones.

INTRODUCCIÓN

Las carrageninas son polímeros lineales sulfatados que se extraen a partir de algas rojas (por ejemplo, *Eucheima cottonii*). La fracción kappa está formada por cadenas alternas de (1-3) - β -D-galactosa-(1-4) anhidro- α -galactosa (Chandrasekaran, 1998). El diagrama de transición sol-gel (DTSG), es la relación entre $\log C_T$ y T^{-1} , donde C_T es la concentración iónica total (sal + polímero) y T es la temperatura absoluta (Rochas 1982).

La Figura 1 muestra el DTSG para una sal de K^+ - κ -carragenina. De acuerdo con el DTSG en la región I la κ -carragenina se encuentra en una forma de hebra aleatoria en forma desordenada, en la región II, la κ -carragenina forma dímeros helicoidales con una transición orden-desorden que es descrita como 2 hebras aleatorias \rightleftharpoons 1 doble hélice. En la región III las dobles hélices se agregan formando una red tridimensional. De acuerdo con esto, es posible que la κ -carragenina forme una doble hélice en presencia de K^+ sin que exista agregación, condición que hasta el momento no se ha estudiado. El objetivo de este trabajo fue examinar el efecto del ión K^+ en el comportamiento viscoelástico de κ -carragenina bajo diferentes conformaciones: hebra aleatoria, dobles hélices sin agregar y dobles hélices en forma agregada formando una red tridimensional. Se utilizó la microDSC para monitorear la transición orden-desorden y compararla con la obtenida a partir del seguimiento de la evolución de G' y G'' en un reómetro de baja amplitud oscilatoria. La microscopía confocal de barrido láser (CLSM por sus siglas en inglés) se empleó para observar la ultraestructura de la red tridimensional de la κ -carragenina y relacionarla con su comportamiento reológico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

La κ -carragenina fue donada por Degusa Texturant Systems (Baupre, Francia). El KCl (Sigma-Aldrich), la Rodamina B (RITC), el DMSO, el DBTDL y la piridina fueron grado analítico. Se empleó agua desionizada.

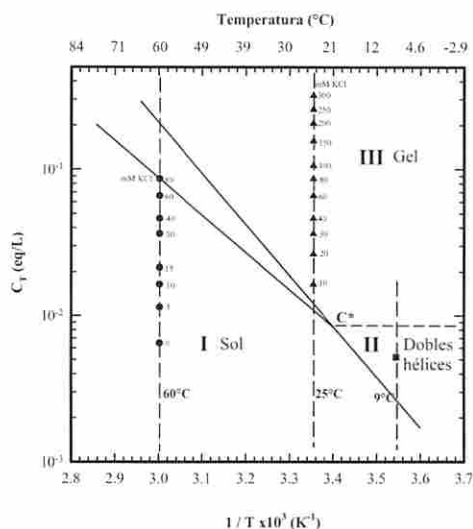


Figura 1. Diagrama de transición sol-gel de κ -carragenina (Rochas, 1982).

Métodos

Las pruebas de microDSC, las propiedades viscoelásticas del sistema y la observación de la ultraestructura se realizaron según procedimientos ya descritos (Núñez-Santiago, 2007).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de K^+ en κ -carragenina en forma de hebra aleatoria. La Figura 2 muestra el efecto de la concentración de KCl en G' y G'' para soluciones de κ -carragenina 0.5% a 60 °C. Para todas las concentraciones de sal, $G'' > G'$ y ambos módulos dependientes de la frecuencia (por ejemplo, $G' \sim \omega^{1.9}$, $G'' \sim \omega^{0.90}$) aproximándose al comportamiento de un líquido viscoelástico. Adicionalmente, G'' disminuye con un incremento de la concentración de KCl, mientras que G' no mostró diferencias significativas ($\alpha = 0.05$). Esto mostró que el comportamiento viscoelástico está dominado por el componente viscoso. Cuando la κ -carragenina se encuentra en estado sol (región I de la Fig. 1), sin importar la temperatura, los iones K^+ escudan las repulsiones electrostáticas entre las cadenas del polímero y reduce las dimensiones de la hebra reduciendo así su viscosidad intrínseca (Snoeren, 1976) por lo que se ve reducida la viscosidad de las soluciones con un incremento de KCl. Sin embargo, cuando la C_T es próxima al estado sol, 80 mM, la incipiente formación agregados helicoidales es promovida, incrementando el número de dobles hélices derivando en la creación de una red.

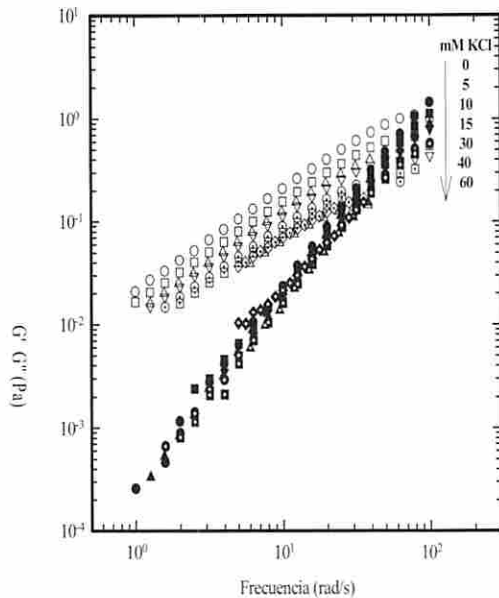


Figura 2. Variación de G' (símbolos llenos) y G'' (símbolos vacíos) con la frecuencia a 60 °C para κ -carragenina 0.5% con diferentes concentraciones de KCl (mM).

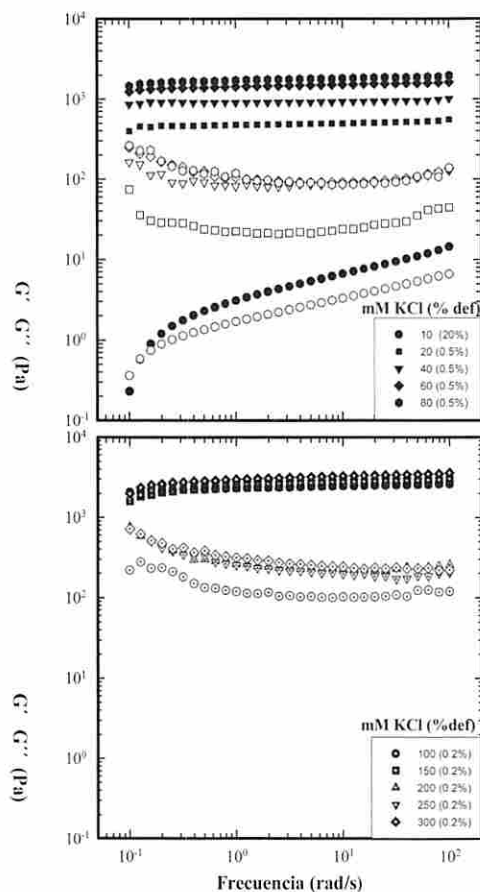


Figura 3. Efecto de la concentración de KCl (mM) en la variación de G' (símbolos llenos) y G'' (símbolos vacíos) con la frecuencia para geles de κ -carragenina 0.5% a 25 °C.

Efecto de K^+ en la viscoelasticidad y ultraestructura de geles de κ -carragenina. La Figura 3 muestra el efecto de K^+ en el comportamiento viscoelástico en geles de κ -carragenina 0.5%. Para 10 mM es posible observar un entrecruzamiento de G' y G'' a bajas frecuencias (0.2 rad/s), sin embargo para 20 mM

KCl el comportamiento es característico de un gel (Nishinari, 1997), con ambos módulos independientes de la frecuencia (por ejemplo, $G' \sim \omega^{0.03}$) en el intervalo de 0.1 a 100 rad/s y $G' \gg G''$. En todos los casos, $\tan \delta \approx 0.1$, con la excepción para 10 mM KCl. En general, la rigidez de los geles incrementa con KCl. Para concentraciones menores de 80 mM KCl, la adición de KCl produjo un rápido incremento en la rigidez de los geles, sin embargo para concentraciones superiores de 80 mM tal incremento no fue notable. Es posible que el polisacárido se sobresature con KCl, lo que produce que toda la κ -carragenina existente en la fase continua forme una red tridimensional.

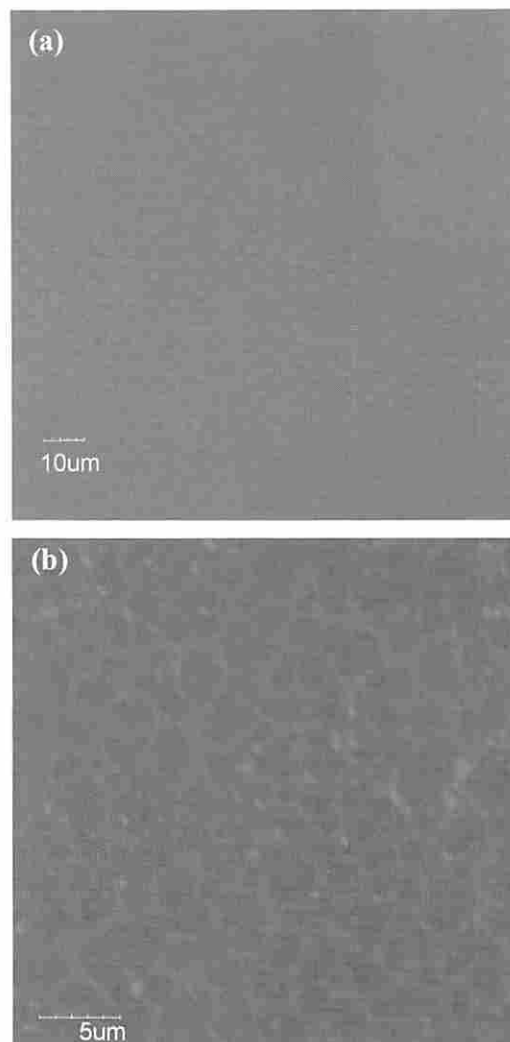


Figura 4. Microscopia confocal de barrido láser de RITC- κ -carragenina 0.5% a $\lambda = 580$ nm. Efecto de la concentración de KCl (mM) en la formación de la red tridimensional: (a) 40, (b) 10 mM KCl.

La Figura 4 muestra la CLSM de los geles formados con RITC- κ -carragenina 0.5%. Las imágenes muestran que en general, se obtiene una red tridimensional homogénea. Para 40 mM KCl, el gel fue denso, prácticamente sin poros. Estas observaciones fueron congruentes con el comportamiento reológico. Para 10 mM KCl se observa una mayor porosidad (zonas oscuras de 2 a 3 μ m donde no hay RITC- κ -carragenina), sin embargo se observa una continuidad en la red formada. Con esto confirmamos que es necesaria la presencia de K^+ para producir la agregación del polímero.

Transición orden-desorden. De acuerdo con el DTSG, cuando $C_T < C^*$, existe una transición de hebras aleatorias a dobles hélices sin agregación. Bajo estas condiciones no existe

istéresis térmica. La microDSC mostró un solo pico en ambos procesos: exo para el enfriamiento y endo para el calentamiento (fig. no mostrada). La entalpía no depende del proceso térmico. Se obtuvo un $\Delta H = 10.73 \text{ J/g}_{\kappa\text{-carragenina}}$. Adicionalmente, la evolución con la temperatura de G' y G'' de 25-9 -25 °C, nos mostró la transición desorden – orden de la κ -carragenina en el enfriamiento y calentamiento, respectivamente. A lo largo de todo el tratamiento térmico, $G'' > G'$. Los módulos no cruzan entre sí y no presentaron histéresis térmica. Esto indica la ausencia de la agregación de dobles hélices. Finalmente, la viscosidad intrínseca de la conformación ordenada mostró ser más del doble en una conformación ordenada de dobles hélices que la respectiva en forma de hebra aleatoria no ordenada, $[\eta] = 23.4$ y $10.5 \text{ dL/g}_{\kappa\text{-carragenina}}$ respectivamente, mostrando la existencia de diferentes conformaciones en diferentes condiciones. Adicionalmente, la $[\eta]$ mostró una disminución con el incremento de la C_T (figura no mostrada), característico en biopolímeros polielectrolitos.

CONCLUSIONES

El efecto de K^+ en el comportamiento viscoelástico de κ -carragenina depende de la conformación adoptada por el polímero en solución: hebra aleatoria, gel o dobles hélices no agregadas, misma que depende de la C_T y la temperatura según el DTSG. La adición de K^+ a geles de κ -carragenina 0.5% por debajo de 100 mM produjo un rápido incremento en la rigidez de los geles, pero arriba de este valor, se satura el polímero con iones K^+ , lo que produjo que el incremento en la rigidez de los geles fuera marginal.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro agradecimiento al CONACyT por el financiamiento del proyecto 36110-B y a la Dra. Ruth Pedroza y M. en C. Guadalupe Franco por su apoyo en las determinaciones calorimétricas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Chandrasekaran, R. (1998). X-ray diffraction of food polysaccharides. In "Advances in Food and Nutrition Research". Vol. 42, Taylor, S.L. (ed). Academic Press, NY. pp. 131-210.
- Nishinari, K. (1997). Rheological and DSC study of sol-gel transition in aqueous dispersions of industrially important polymers and colloids. *Colloid Polymer Science*, 275, 1093-1107
- Núñez-Santiago, María del Carmen. 2007. Reología y ultraestructura de pastas y geles de κ -carragenina y sus mezclas con almidón de maíz ceroso reticulado. Tesis de Doctorado en Ingeniería. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Rochas, C. (1982). Étude de la transition sol-gel du kappa-carraghénane. Thèse Docteur es Sciences Physiques. Université Scientifique et Médicale et Institut National Polytechnique de Grenoble. France.
- Snoeren, T.H.M. (1976). κ -Carrageenan. A study on its physico-chemical properties, sol-gel transition and interaction with milk proteins. Thesis. Wageningen, Holland. pp. 20.

ESTUDIO FRACTAL DE LA IRREGULARIDAD DEL BORDE DEL CRECIMIENTO COLONIAL DE *Rhizopus oligosporus* EN MEDIO SÓLIDO

Brenda Hildeliza Camacho Díaz, José Jorge Chanona Pérez, Carlos Ordorica Vargas, Liliana Alamilla Beltrán, Humberto Hernández Sánchez y Gustavo F. Gutiérrez López.

**Departamento de Graduados e Investigación en Alimentos, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas-IPN. Prol. de Carpio y Plan de Ayala s/n, Col. Santo Tomás, Delegación Miguel Hidalgo, CP 11340.México, D.F.Tel. 57296000 Ext. 62482.
Email: menuquí@yahoo.com.mx,**

Palabras clave: dimensión fractal, análisis de imagen, colonia, borde, micelio.

RESUMEN.

Las colonias como las del hongo zigomiceto *Rhizopus oligosporus*, que es utilizado para la elaboración de soya fermentada ó "Tempeh", se desarrollan como acumulaciones de complejas ramificaciones de micelio produciendo masas circulares con orillas filamentosas (irregulares), mostrando diferentes patrones de crecimiento, crecimiento del borde y ramificación de las hifas. La forma y tamaño de estas colonias es determinado por la frecuencia de aparición y el desarrollo apical de las hifas, influenciados por la velocidad de crecimiento y la disponibilidad de nutrimentos. Por lo que en este trabajo fueron utilizadas herramientas como la microscopía, el análisis fractal y de imágenes para la descripción y cuantificación de aspectos relacionados con el crecimiento y ramificación del micelio del hongo en el borde de la colonia y así con la aplicación de dicha tecnología se logro correlacionar características del crecimiento, como lo es el numero de puntas que se generan en el borde de la colonia y la morfología irregular del mismo con su dimensión fractal.

INTRODUCCIÓN.

Este hongo filamentosos está constituido por filamentos ramificados llamados hifas las cuales crecen y ramifican formando redes complejas denominadas micelio. El micelio se extiende sobre la superficie formando masas discoidales a lo que comúnmente se le conoce como colonia (Prosser y Trinci, 1979). El crecimiento en redes filamentosas es un mecanismo que permite al hongo la exploración y aprovechamiento de los nutrimentos necesarios para su sobrevivencia (Ferreira 2003). El micelio crece por la combinación de dos factores: el crecimiento apical de la hifas que permite explorar las nuevas regiones en busca de nutrimentos y la ramificación, que es la invasión de las áreas descritas por las hifas que se elongan, en general este crecimiento permite que el micelio se expanda simétrica y radialmente (Edelstein, 1982; Soddell et al., 1994).

Cuando los microorganismos como el hongo *Rhizopus oligosporus* crecen sobre sustratos sólidos (Junus, 1976), desarrollan ramificaciones complejas de micelio dando lugar a colonias circulares con orillas filamentosas irregulares. En consecuencia el estudio de estos organismos filamentosos (Crawford et al., 1991) puede dificultarse ya que cuando los objetos de la naturaleza son irregulares, el sistema se vuelve complejo a un grado tal que la geometría Euclidiana no pueda describir sus formas de manera adecuada. En general la naturaleza no se muestra de una manera simple sino con diferentes niveles de complejidad. El detalle observable de los objetos naturales es muy variable y depende tanto del material como los instrumentos de medición (Kaandorp, 1994).

Sin embargo, la visión por computadora, la microscopía el análisis de imágenes y dimensión fractal (Df), son herramientas para cuantificar parámetros morfológicos irregulares y complejos, de tal manera que estas muestran potencial para aplicarse y dilucidar morfologías irregulares, como aquellas propias de la estructura de un hongo (Kaandorp, 1994). En este trabajo se cuantificaron aspectos morfológicos relacionados con el crecimiento de la colonia del hongo *Rhizopus oligosporus* a través de análisis de imágenes y dimensión fractal (Df).

MATERIALES Y MÉTODOS.

Materiales.

Para el desarrollo de este trabajo, se utilizarán esporas liofilizadas de la cepa *Rhizopus oligosporus* NRRL-2710 [CBS 338.62; IFO 8631; IMI 174457;Scholer M 140]. El crecimiento del hongo se llevó a cabo en cajas petri de vidrio de 9mm de diámetro, con medio Czapek (30 g/L Sacarosa, 3 g/L Nitrito de Sodio, 1 g/L Fosfato dipotásico, 0.5 g/L Sulfato de Magnesio, 0.5 g/L Cloruro de potasio, 0.01 g/L Sulfato Ferroso, 15 g/L Agar) a 28°C.

Métodos.

Captura de la imagen de la colonia completa.

La caja Petri conteniendo el crecimiento colonial, fue proyectada sobre un fondo blanco usando el retroproyector de acetatos, para la obtención de la imagen de la colonia completa mediante una cámara digital ((Olympus, Stylus 710, 7.1Megapixeles; Zoom: 3X óptico y 5X digital, 2.5LCD, China).

Captura de las imágenes de la periferia de la colonia.

También fueron tomadas imágenes de la periferia de la colonia utilizando un microscopio estereoscópico (Nikon C-DSS115; Japón), con cámara digital (Nikon 0.55X), acoplado a una PC. A las imágenes proyectadas se les determinó el área y radio. Posteriormente, las imágenes de la colonia en escala de grises fueron editadas en círculos concéntricos mediante una plantilla, de tal forma que se extrajeron partes de la imagen en forma de donas y a estas imágenes se les construyó una grafica en escala de grises para determinarles la Df_r (dimensión fractal de la textura superficial).

A las imágenes obtenidas mediante el microscopio estereoscópico se les calculó la dimensión fractal (Df) de las ramificaciones y la invariabilidad de la Df de la misma, así mismo en dichas imágenes fueron contadas el numero de puntas y la longitud de la hifa mas externa radialmente, apreciable en la imagen.

Análisis de Imagen y calculo de la Dimensión Fractal.

Tanto el análisis de imagen como la determinación de la Df fueron realizados con el Software Imagen 1.34 (National Institute of Health, Bethesda, MD, USA) obtenido de la página web: <<http://rsb.info.nih.gov/ij/2k>>. Así pues la Df fué analizada mediante la herramienta Fractal Box Count mientras que la Df_r se determino con el uso del Pluging SDBC.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

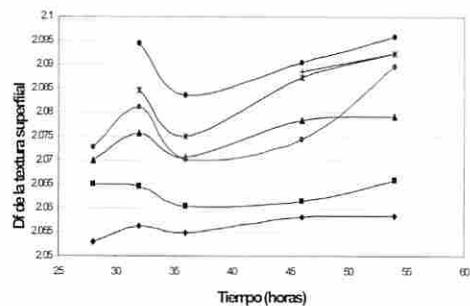
Mediante la captura de la imagen de la colonia completa con el retroproyector y la cámara digital fueron medidas digitalmente, el área y considerando la tendencia de la colonia con una geometría circular, a través de cálculos, el radio de la misma.

La Df_r Dimensión fractal de la textura superficial (rugosidad) aumento del centro hacia la periferia de la colonia (Figura1a), por lo tanto se asumió que la irregularidad de la colonia era mayor en el borde de la misma; en base a esta zona de irregularidad se tomo la decisión de elegir la porción mas

externa de la colonia apreciable en el estereoscopio (3 mm de la periferia hacia el centro de la colonia), para analizar microscópicamente la estructura de la colonia y así definir que parte de esa porción mostraba variabilidad en la Df. Con los datos obtenidos se determinó que el espesor del borde de la colonia útil para evaluar la ramificación irregular de las hifas es de 2 mm a partir de la parte más extrema de la colonia hacia el centro de la misma (Figura 1b).

Lo que es igual a aproximadamente el 80% de la imagen analizada y a su vez con dicha porción de la imagen se alcanza el 97% de la Df máxima de la misma. De tal manera que con la variabilidad de la Df en la periferia de la colonia se nos permitió definir el borde de la colonia.

a)



b)

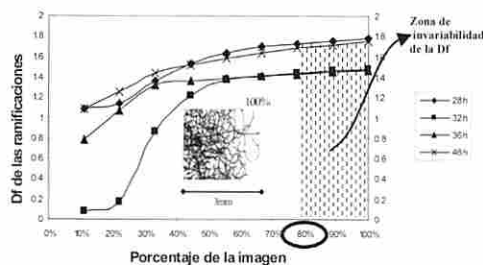


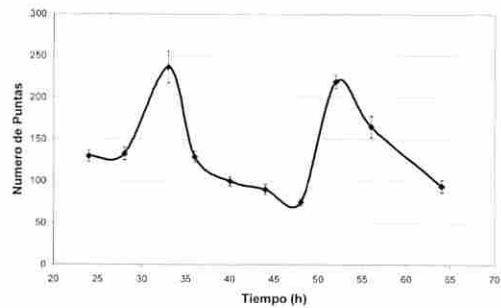
Figura 1a) Df_r del espacio entre los círculos concéntricos de la textura superficial de la colonia; b) Df de las ramificaciones de la colonia y su invariabilidad

Posteriormente se realizó el análisis de un parámetro morfológico comúnmente medido en desarrollos miceliarios como lo es el número de puntas, las cuales fueron contabilizadas en el borde de la colonia haciendo uso del análisis de imagen. El comportamiento del borde indicaría si las hifas ramificaban o se elongaban en su mayoría y se esperaba que a un número de puntas mayor en el borde de la colonia, era que predominaba la ramificación de las hifas y a un número menor de puntas el crecimiento del borde y elongación de las hifas.

Sin embargo fue aun más interesante identificar que a través del tiempo el comportamiento en el borde anteriormente explicado mostró periodos (Figura 2a). Entre las 24h y 28h un período de de las 28h a las 33h un período de ramificación, de las 33h a las 48 h nuevamente un crecimiento del borde, para dar secuencia a otro período de ramificación de las 48h a las 52h, terminando finalmente con otro período de crecimiento en el borde hasta las 64h. sin embargo sería de esperarse que estos ciclos se presenten infinitamente mientras la colonia posea las condiciones para seguir desarrollándose.

Por último se decidió correlacionar la velocidad con que se generaban las puntas en el borde, con la velocidad de cambio de la Df en el mismo (Figura 2b). Obteniéndose en la parte más externa del borde de la colonia una velocidad de cambio de Df mayor correspondiente a una velocidad de generación de puntas menor y en la porción del borde más cercana al centro de la colonia valores menores de velocidad de cambio de la Df con respecto a una velocidad de generación de puntas mayor.

a)



b)

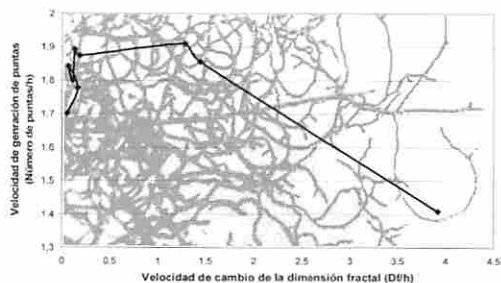


Figura 2a) Número de Puntas en el borde de la colonia; b) Velocidad de cambio de la Df. Vs Velocidad de generación de puntas

CONCLUSIONES.

La Df de la textura superficial (rugosidad) de la imagen mostró que la irregularidad de la colonia podía ser evaluada y cuantificada en el borde de la misma. La Df de la textura medida de los segmentos entre círculos concéntricos de micelio tuvo un incremento del centro de la colonia hacia la periferia de la misma. El espesor del borde de la colonia útil para evaluar el crecimiento de las hifas es de aproximadamente 2 mm a partir del extremo de la colonia hacia el centro de la misma. Mediante el número de puntas se definió que el borde de la colonia crece radialmente y se ramifica siguiendo los patrones anteriormente descritos. La velocidad de cambio de la Df es inversamente proporcional a la velocidad de generación de puntas. La dimensión fractal asociada al conteo de puntas es útil para la cuantificación de la complejidad de la morfología de la colonia de este hongo.

AGRADECIMIENTOS.

Al apoyo del Instituto Politécnico Nacional (IPN) y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), COFAA y PIFI.

REFERENCIAS.

1. Crawford, J.W., Ritz, K. and Young I.M. 1991. "Fractals: branching into soil structure". ISSS International Workshop on Methods of Research on Soil Structure/Soil Biota Interrelationships. Wageningen, Netherlands.
2. Edelstein, L. 1982. The propagation of fungal colonies: a model for tissue growth. *Journal of Theoretical Biology*, 98: 679-701.
3. Ferreira, W.C. and Kato, L.A. 2003. Modelo de propagação de lesões foliares causadas por fungos. *Biomatemática*, 8: 45-53.
4. Junus, A. and Sundberg, W. 1976. Penetration of *Rhizopus oligosporus* into Soybeans in Tempeh. *Applied and Environmental Microbiology*, 32 (2): 284-287.
5. Kaandorp, J.A. 1994. "Fractal modeling: Growth and form in biology". Springer. Berlin, Alemania.
6. Prosser, J.I. and Trinci, A.P.J. 1979. A model for hyphal growth and branching. *Journal of General Microbiology*, 111: 153-164.
7. Soddell, F., Seviour, R. and Soddell, J. 1994. Using Lindenmayer systems to investigate how filamentous fungi may produce round colonies. *Complexity International*, 2: 61-68.

ESTUDIO DE MADURACIÓN DE PLÁTANO MORADO (*Red banana*) POR EL CONTENIDO ENZIMÁTICO.

Cortés-Acosta, Mary Carmen; Gallardo-Yoja; Anaya-Sosa, I.; Cruz y Victoria, María Teresa.
GRADUADOS E INVESTIGACIÓN EN ALIMENTOS. ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL. MEXICO, D.F. Fax: 57296300 ext. 62463
E-mail: mary_ac8@hotmail.com y tereipn@hotmail.com

Palabras clave: almidón de plátano, enzimas de plátano.

RESUMEN.

El plátano morado es un fruto ampliamente conocido pero de poca importancia comercial y cerca del 20-25% de la pulpa fresca de la fruta verde es almidón.

El almidón es el mayor componente de la dieta en todas las poblaciones humanas, es excelente para modificar la textura y consistencia de los alimentos. (Biliaderis, 1991). Es el principal polisacárido de reserva de las plantas, está formado por una fracción lineal (amilasa) y por una ramificada (amilopectina), ambas compuestas por D-glucosa y su concentración en los frutos varía con el estado de madurez. (Lii y col., 1982).

Poland y col., 1937 identificó a la sacarosa, glucosa y fructosa como los principales azúcares en la pulpa del plátano, estos se incrementan en la maduración manteniéndose en proporciones constantes de 66% de sacarosa, 14% de fructosa y 20% de glucosa.

Las enzimas que hidrolizan el almidón y los azúcares como la sacarosa son la amilasa y la invertasa las cuáles se encuentran presentes de forma natural en los frutos como el plátano; en este estudio se realizó la comparación de la actividad enzimática de amilasa e invertasa en diferentes extractos de plátano morado maduro y verde encontrando que la actividad enzimática se incrementa a medida que aumenta el tiempo de reacción y es mayor en el plátano morado en estado verde que en el plátano maduro.

INTRODUCCIÓN.

El plátano es un fruto conocido en todo mundo, es originario del sur de Asia y fue introducido a nuestro país en 1865, fue clasificado por primera vez por Lineo que le dio el nombre de "Musa". El plátano se divide en dos grupos "plátano fruta" que comprende la especie "*Sapientum*" los cuales se pueden comer en forma natural y se les llama bananos y el "plátano vianda" de la especie "*Paradisíaca*" que requieren cocinarse para su consumo y se les llama plátanos (Polo 1942).

El plátano morado, tafetán o red, es una planta alta y robusta de color morado intenso, con fuertes pecíolos y nervadura central color morado muy distintivo y característico, no ha sido de importancia económica y se le ha relacionado con costumbres como la de Día de Muertos (Contreras, 1982).

El cambio químico más notable en el plátano ocurre después de la cosecha y es la hidrólisis del almidón y la acumulación de azúcares, cerca del 20-25% de la pulpa fresca de la fruta verde es almidón (Loesecke, 1950).

El almidón es el principal polisacárido de reserva de las plantas, se encuentra en gran variedad de tejidos, incluyendo hojas, tubérculos, frutas y semillas (Thomas y Atwell, 1999). En los frutos el almidón es una reserva energética y su concentración varía con el estado de madurez (Lii y col., 1982).

Amilasa

Las amilasas (EC 3.2.1.1; 1-4- α -D-glucano glucanohidrolasa) son enzimas que actúan hidrolizando los enlaces α -1,4-glicosídicos del almidón, el glucógeno y sus derivados. La actividad endoglicolítica en los enlaces del almidón crudo soluble, producen dextrina y oligosacáridos que son sujetos a la acción de las exoglucosidasas (Vieira, 2006).

Las amilasas son de cuatro tipos y se diferencian por la manera de en que hidrolizan los enlaces químicos del almidón: las α y β -amilasas atacan los enlaces glucosídicos α -1,4; las glucoamilasas los α -1,4 y α -1,6 y las del grupo de las amilopectina-1,6-glucosidasas hidrolizan exclusivamente los enlaces α -1,6. (Badui, 1986).

Invertasa

Una de las disacaridasas más importantes es la invertasa (β -fructofuranidasa), que hidroliza la sacarosa, se utiliza en la fabricación de miel artificial y de azúcar invertido que tienen una gran demanda debido a que su poder edulcorante es mayor que el de la propia sacarosa; una ventaja muy importante de los azúcares invertidos es su alta solubilidad y poca tendencia a cristalizar, por lo que son empleados en la industria de la confitería. (Badui 1986).

OBJETIVO GENERAL.

El objetivo de este trabajo es el estudio de la maduración del plátano morado. Utilizando las actividades enzimáticas de amilasa e invertasa en plátano en estado verde y en estado maduro y determinar las condiciones de solubilidad y actividad en solución en H₂O y NaCl.

MATERIALES Y MÉTODOS.

Materia prima.

-Plátano morado en estado verde y maduro obtenido en la central de abastos del DF.

Reactivos

- Almidón soluble Merck
- Regulador de fosfatos 0.02M, pH 6.9
- Sacarosa 0.3 M
- Regulador de acetatos 0.05 M pH 4.7
- NaCl al 5%
- Ácido 3-5, dinitro salicílico (DNS).

Equipo y material de laboratorio.

- Fotocolorimetro (Klett-Summerson Mod. 800-3 Serie 49953).
- Baño de agua María a 35° C. (Lab-Line Instrument, Inc, Melrose Park, Illinois).
- Balanza Granataria (Ohaus Explorer Pro Mod. EP64)
- Parrilla eléctrica (Thermolyne corporation dubuque type 1900 Mod. HP-A1915B).

Metodología

Determinación de la actividad enzimática. (Método de Miller, 1959).

Este método se basa en la cuantificación de los grupos reductores formados por la acción de la α -amilasa sobre la molécula de almidón. Se utiliza el DNS, cuya intensidad de color es proporcional a la cantidad de maltosa presente en la muestra.

Actividad enzimática en función del tiempo.

Amilasa

Se prepara una serie de tubos por triplicado y un testigo, se les agrega 1.7 ml de almidón soluble (1 gr. se disuelve en regulador de fosfatos pH-6.9, 0.02 M, a ebullición, agitando vigorosamente por 3 minutos, se saca del fuego, enfría y afora a 95 ml.), se incuban en un baño de agua a 35 °C por 10 minutos, transcurrido este tiempo se adiciona 0.3 ml del extracto de plátano. El tiempo de reacción será de 30 minutos, 1, 3, 24, 48 y 72 horas. Para detener la reacción se agregan 4 ml del DNS, los tubos se revelan en agua a ebullición por 5 minutos, se enfrían y se leen en el fotocolorimetro con filtro verde.

Invertasa

Se prepara una serie de tubos por triplicado y un testigo, se les agrega 1.0 ml de sacarosa 0.3 M, 1.7 ml de regulador de acetatos 0.05 M pH 4.7, se incuban en un baño de agua a 35 °C por 10 minutos, transcurrido este tiempo se adiciona 0.3 ml del extracto de plátano. El tiempo de reacción será de 30 minutos, 1, 2, 3, 24, 48 y 72 horas. Para detener la reacción se agregan 4 ml de ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS), los tubos se revelan en agua a ebullición por 5 minutos, se enfrían y se leen en el fotocolorímetro con filtro verde.

Preparación de los extractos de plátano.

Se pesan 200 gramos de plátano morado verde, se licuan con 250 ml de H₂O destilada y 200 gramos con 250 ml de NaCl al 5%, lo mismo para el plátano maduro, se refrigeran durante 48 horas y se filtran con manta de cielo.

Elaboración de la curva tipo de maltosa.

Se elabora a partir de una concentración de 1000µg/ml. Se pesan 50 mg de maltosa y se disuelven en 50ml de agua destilada y se prepara una serie de tubos por triplicado con 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 y 1.0 ml y se adiciona agua para llevar a 1 ml, a cada tubo se le agregan 4 ml de DNS, se ponen los tubos en baño María a ebullición por 5 minutos, se enfrían y se leen a 540 nm o con filtro verde.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Curva tipo de maltosa.

En la Figura 1, se obtuvo la ecuación de la recta la cual se usará para interpolar y determinar los microgramos de maltosa liberados en la actividad enzimática de los diferentes extractos.

Actividad enzimática en microgramos de maltosa liberados por cada extracto de plátano en función del tiempo.

En los Cuadros 1 y 2, se muestran las actividades enzimáticas de amilasa e invertasa en los diferentes extractos, expresadas en µg de maltosa liberados por mililitro de extracto en función del tiempo. En las Figuras 2 y 3 se muestra el comportamiento cinético de cada uno de los extractos, en función del tiempo y expresados en µg de maltosa liberados.

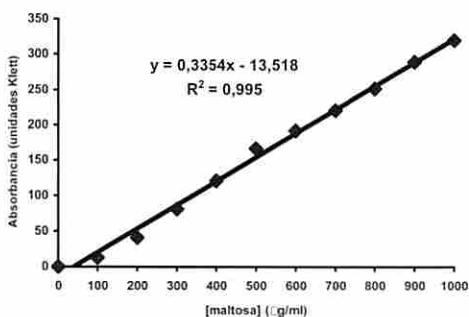


Figura 1 Curva tipo de maltosa

Cuadro 1. Actividad enzimática de amilasa de plátano morado en función del tiempo.

TIEMPO (h)	µg MALTOSA LIBERADA/ML EXT.			
	PLÁTANO MADURO		PLÁTANO VERDE	
	Ext. En H ₂ O	Ext. En NaCl	Ext. En H ₂ O	Ext. En NaCl
0.5	493	368	1422	1103
1	778	567	2302	2157
3	877	1024	3361	2853
24	1760	1851	3753	3157
48	2388	2342	4057	3952
72	2865	2805	4781	4284

Cuadro 2. Actividad enzimática de invertasa de plátano morado en función del tiempo.

TIEMPO (h)	µg GLUCOSA LIBERADA/ML EXT.			
	EXTRACTOS DE PLÁTANO MADURO		EXTRACTOS DE PLÁTANO VERDE	
	H ₂ O	NaCl 5%	H ₂ O	NaCl 5%
0.5	1426	1196	1605	1527
1	1715	1775	2082	1843
2	2290	2200	2380	2231
3	2699	2648	4139	3704
24	4526	3781	4795	5033
48	4684	5609	6268	6396
72	3670	4714	7132	7350

En la Figura 2 se presenta la actividad de amilasa en los diferentes extractos y se observa que su actividad aumenta a medida que aumenta el tiempo de reacción. La mayor actividad se presentó en los extractos de plátano verde entre un 35 y 40 % más que en el plátano maduro. Además se observa que el extracto de plátano maduro en agua y en cloruro de sodio, presenta un comportamiento similar con una diferencia del 2%, mientras que el extracto de plátano verde tiene una actividad 10% mayor en agua que en NaCl. En la Figura 3, se presenta el comportamiento de la actividad de invertasa en los diferentes extractos, teniendo que el extracto con plátano verde es también el que mayor actividad presenta entre un 36 y 49%, el extracto de plátano maduro muestra 22% más actividad con cloruro de sodio que con agua, mientras que para el extracto con plátano verde no hay diferencias significativas ya que la diferencia es del 3%.

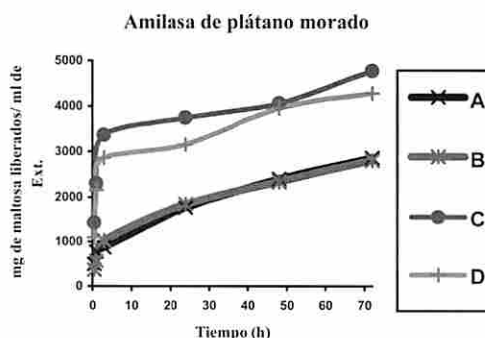


Figura 2. Actividad enzimática de amilasa de plátano morado en µg de maltosa liberados por mililitro de extracto. (A) extracto de plátano maduro en H₂O, (B) extracto de plátano maduro en NaCl, (C) extracto de plátano verde en H₂O, (D) extracto de plátano verde en NaCl.

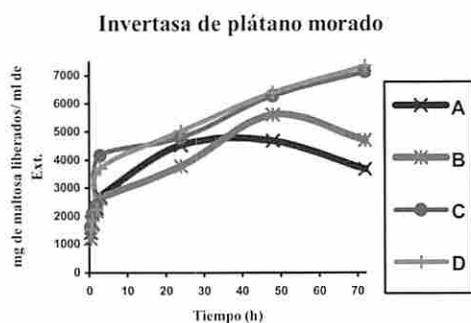


Figura 3. Actividad enzimática de invertasa de plátano morado en μg de glucosa liberados por mililitro de extracto. (A) extracto de plátano maduro en H_2O , (B) extracto de plátano maduro en NaCl , (C) extracto de plátano verde en H_2O , (D) extracto de plátano verde en NaCl .

CONCLUSIONES

-De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio, se concluye que la actividad hidrolítica de la amilasa e invertasa aumenta en función del tiempo hasta un 83%, ya que la mayor cantidad de μg de maltosa y glucosa liberados por mililitro de extracto se presentó a las 72 horas que fue el máximo tiempo de reacción.

-Se obtuvo que el extracto en solución de H_2O con mayor actividad enzimática fue el de plátano verde, ya que presentó de 35 a 49% más actividad que el extracto con plátano maduro utilizando ambas enzimas.

-En cuanto a las soluciones de H_2O y NaCl al 5% utilizadas se observó que el efecto del agua para el extracto de plátano verde fue 10% mayor que el de cloruro de sodio en las dos actividades enzimáticas (amilasa e invertasa).

-Con todos estos resultados se puede decir que el plátano morado verde en H_2O es el que presenta mayor actividad enzimática tanto de amilasa como de invertasa, lo cual también indica que el plátano verde tendrá una actividad fisiológica alta, para que en el estado maduro se encuentren altas concentraciones de azúcares simples como: dextrinas de bajo peso molecular, maltosa, glucosa y fructosa, las cuales van a dar el gusto dulce característico de un plátano maduro.

Los resultados indican que en el plátano morado maduro la actividad enzimática es menor, ya que los sustratos (almidón y sacarosa) prácticamente están agotados.

AGRADECIMIENTOS.

Este proyecto se realizó con el apoyo de la beca PIFI y CONACYT.

Los profesores tienen Beca SIBE y EDD

BIBLIOGRAFÍA

- Badui DS. 1986. Química de los Alimentos. México. Alambra. 80-91, 233-235 p
- Contreras MEMA. 1982. Identificación y caracterización de 16 clones de plátano en Tabasco. UACH Méx. Colección cuadernos Universitarios, Serie agronomía No. 4 25-29 p.
- Lii CY, Chang SM, Young YL. 1982. Investigation of the physical and chemical properties of banana starches. *J Food Sci* 47: 1493-1497.
- Loesecke HW. 1950. Bananas. 2nd ed. Interscience, New York.
- Polo CA. 1942. El plátano en México. Ver. Méx. 1-2, 22-24 p.
- Thomas DJ, Atwell WA. 1999. Starches. St. Paul, MN, USA. Eagan Press. 1-30 p.
- Vieira JA, Do Nascimento OJR, Lajolo FM. 2006. Molecular cloning and characterization of an α -amylase occurring in the pulp of ripening bananas and its expression in *pichia pastoris*. *J. Agric. Food Chem* 54: 8222-8228.

EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DO INÓCULO E DA RELAÇÃO SOLUTO/SUBSTRATO DE FERMENTAÇÃO NO CRESCIMENTO DO *Aspergillus niger* 3T5B8 MEDIDO PELA VARIAÇÃO DO TEOR DE GLICOSAMINA

Sonia Couri¹, Ana Carolina P. Oliveira², Suely P. Freitas³, Mônica C. T. Damaso⁴

¹Embrapa Agroindústria de Alimentos - Av. das Américas, 29.501 - Guaratiba - 23020-470 Rio de Janeiro/RJ, Brasil - scoury@ctaa.embrapa.br. ²Discente de Ciências Biológicas UENF/RJ.

³Universidade Federal do Rio de Janeiro-Escola de Química, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro/RJ, Brasil. ⁴Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro-Departamento de Tecnologia de Alimentos, Seropédica /RJ, Brasil.

Palavras-chave: Crescimento microbiano, produção, farelo de trigo, semi-sólida.

RESUMO

O crescimento do *Aspergillus niger* 3T5B8, selecionado como produtor potencial das enzimas pectinases (Couri & Farias, 1995), foi medido pelo teor de glicosamina ao longo da fermentação semi-sólida em função da variação da concentração de inóculo e da relação soluto/sustrato. A relação foi ajustada com uma solução 0,91% de NH₄SO₄.HCl 0,1M, de forma a mantê-la em 0,06 e 0,08L/100g. A concentração de conídio variou entre 10⁵ e 10⁷/g de meio. O planejamento expandiu-se e foram estudadas, como ponto central, as variáveis 0,07L/100g de substrato e 10⁶conídios/g de meio. Com a relação de 0,08L/100g e concentração de conídio de 10⁵/g obteve-se a condição mais favorável para a produção de glicosamina.

INTRODUÇÃO

O processo de fermentação semi-sólida tem influência de diversos fatores entre eles o da concentração de conídios e da relação soluto/substrato responsável pela água livre do meio de fermentação. O limite de saturação da água presente no meio, sob a forma complexada com a matriz sólida, depende do tipo de substrato para se obter uma atividade de água adequada para o crescimento microbiano (Pandey, 1992), que por sua vez, tem uma relação direta com a produção de metabólitos. Os métodos convencionais de estimativa da biomassa não são adequados para a fermentação semi-sólida uma vez que se torna impossível separar a biomassa do meio fermentativo (Sparringa & Owens, 1999). A técnica mais utilizada tem sido a de análise do teor de glicosamina, onde se mede a n-acetil-D-glicosamina, que é o monômero da quitina, um polissacarídeo presente na parede celular dos fungos (Penman *et al.*, 2000). O presente trabalho teve como objetivo estudar a variação do teor de glicosamina sob a influência da concentração inicial do inóculo e da relação inicial de soluto e substrato, na fermentação semi-sólida por *A. niger* 3T5B8 em substrato de farelo de trigo.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi utilizada a linhagem *Aspergillus niger* 3T5B8 da coleção da Embrapa Agroindústria de Alimentos mantida a -18°C, ativada em gelose com meio básico e depois transferida para meio de sabugo de milho, para produção de conídios (Couri & Farias, 1995). Para o preparo do meio de cultura, foram utilizados 100 g de farelo de trigo triturado, acrescidos de 5% de amido, e misturados a 0,06 ou 0,08 L/100g e 0,07 L/100g de solução 0,91% de (NH₄)₂SO₄ em HCl 0,1M. O inóculo foi preparado com adição de 20 mL de uma solução 1% de Tween 80 por frasco de sabugo de milho. O número de conídios/mL foi determinado em uma suspensão pela contagem em câmara de Neubauer. As concentrações para inoculação foram em torno de 10⁵, 10⁶ e 10⁷ conídios/mL. O reator da fermentação semi-sólida foi do tipo colunas de vidro (dimensão: 220 x 22 x 22 cm³) contendo 14 g de meio esterilizado, no tempo total de 96 horas de fermentação. O acompanhamento do processo foi feito através da determinação da biomassa pelo método da glicosamina (Blix, 1948 e Sakurai *et al.*, 1977). A umidade do

meio foi determinada pelo percentual de água evaporada após a secagem da amostra a 100°C por 24 horas. Como planejamento experimental utilizou-se fatorial de 2², sendo a relação solução/substrato de 0,06 e 0,08 L/100g e a concentração de conídios de 10⁵ e 10⁷/mL. Além disso, foi testado o ponto central da relação solução/substrato de 0,07L/100g e a concentração de conídios de 10⁶/mL. As combinações testadas estão codificadas na Tabela 1.

Tabela 1. Condição experimental e a codificação das variáveis.

Exp erim ento	Variáveis		Variáveis codificadas	
	Relação (L/100g)	Conídios/ mL	Relação (L/100g)	Conídio /mL
1	0,06	10 ⁵	-1	-1
2	0,06	10 ⁷	-1	1
3	0,08	10 ⁵	1	-1
4	0,08	10 ⁷	1	1
5	0,07	10 ⁶	0	0
5	0,07	10 ⁶	0	0

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A variável relação soluto/substrato e o teor de glicosamina estão relacionados conforme os resultados dos experimentos 2 e 3 (Figura 1), ou seja quanto maior a adição inicial de soluto, maior o teor de glicosamina e vice versa. As diferenças no teor de glicosamina foram detectadas a partir de 40h, com um picc após 64 h com na condição 3 (0,08 L/100g e 10⁵ conídios/mL), que teve uma concentração celular duas vezes maior do que a medida no experimento 2. Outro aspecto analisado foi a cinética da umidade do meio de fermentação (Figura 2). As umidades iniciais variaram no intervalo de 40 a 44% e as finais ficaram entre 30 e 15%, enquanto que na condição 2, a umidade iniciou em 44% e ao término da fermentação (96 h) estava em apenas 3,5%. Pandey (1992) demonstrou a importância do controle da umidade na fermentação semi-sólida. Comparando o inóculo inicial e a relação inicial soluto/substrato de fermentação com a produção de glicosamina, foram analisados pontos onde mostram que a menor concentração de inóculo quando associada a uma maior adição inicial de soluto (experimento 3) favorece o crescimento microbiano. Contrastando-se com o aumento na concentração de inóculo e menor relação soluto/sustrato onde se observou um baixo crescimento, conforme detectado pelo teor de glicosamina. (experimento 2) No ponto central escolhido, foi observado um crescimento contínuo da glicosamina durante o período fermentativo e um declínio gradual de umidade.

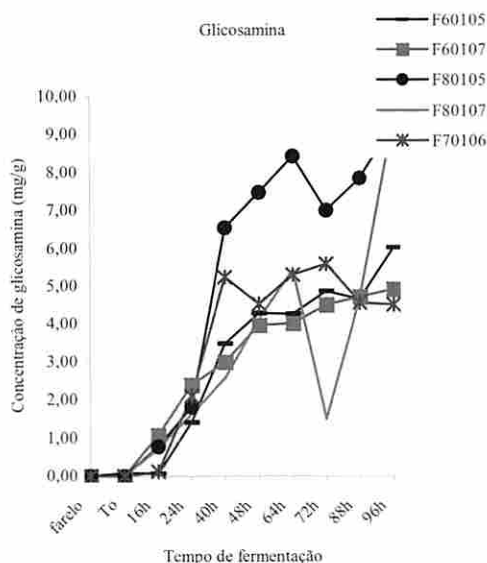


Figura 1: Teor de glicosamina ao longo da fermentação

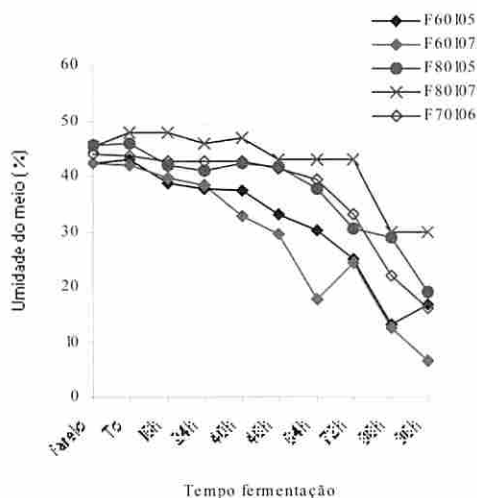


Figura 2: Umidade do meio em função do tempo de fermentação

CONCLUSÕES

Nas condições testadas quando maior a relação e menor a concentração de inóculo a taxa de crescimento do microrganismo será maior. e foram,

Os resultados indicaram influencia, tanto negativa quanto positiva, entre a relação inicial de soluto/substrato e a concentração inicial de inóculo, no crescimento microbiano. Nas condições testadas, a maior taxa de crescimento foi conseguida na condição 3 ou seja, maior relação e menor concentração de inóculo Estes resultados confirmam, mais uma vez, a grande importância da água livre inicial para o crescimento do *A. niger* 3T5B8.

Nas faixas testadas, o crescimento microbiano e a água livre inicial do meio estão diretamente relacionados e o inóculo inicial tem relação inversa com a produção de glicosamina.

AGRADECIMENTOS

Macro programa 3- Embrapa Agroindústria de Alimentos. CNPq e FAPERJ.

REFERÊNCIAS

- Blix, S. 1948. The determination of hexosamines according to Elson and Morgam. *Acta Chemica Scandinavica*, v. 2, p. 467-478.
- Couri, S.; Farias, A. X. 1995. Genetic manipulation of *Aspergillus niger* for increased synthesis of pectinolytic enzymes. *Revista de Microbiologia*, v. 26(4), p. 314-317.
- Pandey, A. 1992. Recent process developments in solid state fermentation. *Process Biochemistry*, v. 27, p. 109-117.
- Penman, D.; Britton, G.; Hardwick, K.; Collin, H.A.; Isaac, S. 2000. Chitin as a measure of biomass of *Crinipellis perniciosa*, causal agent of witches' broom disease of *Theobroma cacao*. *Mycology Research*, v. 104(6), p. 671-675.
- Sakurai, Y.; Lee, T.H.; Shiota, H. 1977. On the convenient for glucosamine estimation in *Ko Koji*. *Agriculture Biology Chemistry*, v. 41(4), p. 619-624.
- Sparringa, R.A.; Owens, J.D. 1999. Glucosamine content of tempe mould, *Rhizopus oligosporus*. *International Journal of Food Microbiology*, v 47, p 153-157.

PRODUÇÃO DE HIDROLISADOS PROTÉICOS A PARTIR DE PENAS DE FRANGO POR FERMENTAÇÃO SUBMERSA

Couri, S¹, Mazotto, A.M.³, Damaso, M. C. T.², Vermelho, A.B.³

1- Laboratório de Processos Fermentativos, Embrapa Agroindústria de Alimentos-Rio de Janeiro, RJ - scoury@ctaa.embrapa.br

2- Laboratório de Fermentações, Departamento de Tecnologia de Alimentos, UFRRJ-Seropédica, RJ;

3-Laboratório de Proteases de Microrganismos, Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Góes, UFRJ-Rio de Janeiro,RJ;

Palavras chaves:: protease, queratinase, fermentação, pena de galinha

RESUMO

Como o Brasil é um dos maiores exportadores de frangos do mundo, acarreta-se com isso um aumento do abate de frangos e o crescimento dos resíduos agroindustriais de penas de frango gerados por tal setor. Por este motivo, o presente trabalho teve como objetivo utilizar este subproduto para a produção de proteases fúngicas em fermentação submersa tendo em vista a obtenção de hidrolisados protéicos que podem ser usados como suplemento para ração animal ou mesmo como aditivos digestivos dessa ração. O processo de produção de proteases foi conduzido em frascos cônicos contendo meio de fermentação com 1% de penas de frango em tampão fosfato e inoculado com um fungo filamentosos. Após a fermentação, procedeu-se à filtração do meio e obtenção do hidrolisado protéico. Este hidrolisado foi avaliado em relação a atividade de queratinase e gelatinase. Dentre as linhagens de *Aspergillus niger* previamente selecionadas por técnica do ponto central, três foram testadas. Após 4 e 7 dias de fermentação, os hidrolisados foram analisados em relação a atividade de queratinase e gelatinase. Os melhores resultados para ambas as enzimas foram obtidos após 7 dias de fermentação para as linhagens de *A. niger* 3T5B8 (35U/mL; 89U/mL), *A. niger* 9D80 (52U/mL; 148U/mL) e *A. niger* 11D40 (64U/mL, 85U/mL), respectivamente. O perfil dos resultados obtidos pela análise da atividade das enzimas foi corroborado pela técnica da zimografia. A linhagem 9D80 de *A. niger* foi selecionada como a melhor produtora de queratinase e gelatinase. Os resultados obtidos confirmaram a possibilidade do aproveitamento industrial das penas de frango e o aumento do valor agregado deste subproduto, que em sua maioria é descartado.

INTRODUÇÃO

Devido a expansão da indústria avícola, observa-se um expressivo aumento na demanda de matérias primas para a produção de ração, assim como na quantidade de resíduos das partes não comestíveis das aves como: penas, vísceras e carcaças condenadas (Moura et al, 1994, Scapim et al, 2003). Quando lançados no meio ambiente, estes resíduos geram problemas ambientais e devido às grandes quantidades de penas de frango geradas, o desenvolvimento de processos para a utilização deste resíduo tem sido estimulado (Shih, 1993; Thomas et al., 1995). Atualmente, o Brasil é um dos maiores exportadores de frangos do mundo. Em junho de 2007, as exportações brasileiras de carne de frango somaram 259,3 mil toneladas com as plantas processadoras de frangos produzindo 870 mil toneladas de penas de frango (5 a 7% do peso das aves, contendo 90% de queratina). Nos Estados Unidos, por exemplo, que é o maior produtor do mundo as exportações somam 16.413 mil toneladas em 2007 essa estimativa aproxima-se de 4 milhões de toneladas anuais (Ichida, et al., 2001, Barone & Schmidt, 2006).

Queratinases são enzimas proteolíticas que têm como substrato a proteína queratina que é de difícil degradação tanto por agentes físicos, químicos ou biológicos, devendo-se a sua resistência mecânica e estabilidade molecular ao grande número de pontes dissulfeto formadas entre seus resíduos de cisteína. O uso de queratinases microbianas para hidrolisar as penas descartadas pode ser uma alternativa para o aproveitamento

industrial desse resíduo, que em sua maioria é descartado. As queratinases produzem hidrolisados protéicos que podem ser usados como suplemento para ração animal ou mesmo como aditivos digestivos dessa ração. O acúmulo de penas e sua deterioração lenta, forma compostos sulfurosos de odor extremamente desagradável. E desta forma vários estudos estão sendo impulsionados tendo em vista a seleção de microrganismos queratinolíticos e de processos envolvidos na biodegradação da queratina (Onifade et al., 1998 Friedrich et al., 1999 Suntornsuk et al., 2003).

Trabalhos realizados no Brasil, sobre produção de queratinases por *Aspergillus fumigatus* (Santos et al, 1995) e *Chryseobacterium* sp. (Riffel et al 2003) indicam que as enzimas produzidas são capazes de degradar queratina *in natura*, tendo potencial para uso em processo biotecnológico na degradação de pena (Revisto por Bon & Vermelho, 2004).

MATERIAL E MÉTODO

Teste de seleção com 26 linhagens *Aspergillus niger*, da coleção de microrganismos da Embrapa Agroindústria de Alimentos, pelo método do ponto central em placa de Petri. Ao meio de crescimento foi adicionado 1% de farinha de pena ou gelatina. As placas inoculadas foram incubadas a 36°C por 4 dias. O tamanho da colônia foi medido diariamente e a homogeneidade da colônia e formação de setores foram observadas. Após 96 h de incubação, as placas foram coradas com *Coomassie Blue* e descoradas com metanol:ácido acético:água (5:1:4) para detecção dos halos de degradação. As amostras que apresentaram halos com diâmetro superior ao da colônia foram selecionadas.

A fermentação submersa para a produção de proteases foi conduzido em frascos cônicos de 50 mL contendo 25 mL de meio de fermentação com 1% de penas de frango em tampão fosfato. O meio foi esterilizado e inoculado com esporos fúngicos. Após a fermentação, procedeu-se à filtração do meio e obtenção do extrato enzimático (hidrolisado protéico e enzimas).

O extrato foi caracterizado quanto as atividades queratinolítica e gelatinolítica, zimografia e teor de proteína (Warzkiewicz et al., 1987, Grwnowicz et al., 1989, Haspal et al. 1983, Lowry, 1951, respectivamente).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre as 26 linhagens avaliadas, as *A. niger* 3T5B8, 9D80 e 11D40 foram as únicas que apresentaram halo de degradação superior ao halo da colônia, o halo da colônia foi de 31, 32,6 e 30,6 mm e de degradação foi de 35, 36,5, e 32 respectivamente ao final de 4 dias incubação. Estas linhagens também apresentaram colônias densas e sem formação de setor.

A linhagem 9D80A foi testada em fermentação submersa e as amostras analisadas no 4º e 7º dias e os filtrados (extratos enzimáticos) foram analisados quanto a atividade proteolítica utilizando gelatina como substrato e quanto a atividade queratinolítica, com queratina extraída de penas de frango (Warzkiewicz et al., 1987). Esta linhagem foi a que produziu a maior atividade proteolítica (148 U/mL) e uma atividade queratinolítica de 52 U/mL. A atividade queratinolítica de 64 U/mL do *A. niger* 11D40 foi próxima a do *A. niger* 9D80,

entretanto a atividade proteolítica foi menor (85 U/mL). A concentração média de proteínas nos sobrenadantes foi de 0,83 mg/mL.

Utilizando a técnica de zimografia foram analisados os perfis proteolíticos (utilizando gelatina e caseína) e queratinolítico (utilizando queratina extraída de penas de frango) dos extratos enzimáticos obtidos das três linhagens testadas. Os resultados indicaram que todas as linhagens de *A. niger* testadas possuem expressão de peptidases extracelulares distintas.

O extrato enzimático de *Bacillus licheniformis*, uma bactéria queratinolítica, crescida em condições similares foi utilizada como padrão. Algumas proteases, como as que migram em aproximadamente 40 e 60 kDa em gelatina e a queratinase que migra na faixa de 60 kDa estão presentes em todas as linhagens. Porém, nenhuma das três linhagens apresentaram o mesmo perfil queratinolítico e nenhuma das queratinases de *A. niger* encontra correspondente de mesmo peso molecular em *B. licheniformis*.

As 3 linhagens apresentaram pouca semelhança de perfil proteolítico contra caseína. A utilização de diferentes inibidores no tampão de proteólise permitiu a determinação da classe enzimática das peptidases produzidas por estas 3 linhagens. O *A. niger* 3T5B8 apresentou apenas metalopeptidases, enquanto que com o *A. niger* 9D80 foi observado apenas serina-peptidases. O *A. niger* 11D40 apresentou metalopeptidases, embora tenha sido observada a inibição parcial de algumas peptidases por E-64, um inibidor específico de metalopeptidases.

Foi observada uma predominância de serina e metalopeptidases nas linhagens testadas. A presença de serina peptidases extracelulares em *A. niger* foi observada por Basten et al. (2005), cuja peptidase estudada foi inibida por TLCK e TPCK, dois inibidores de serina-peptidases, porém eles observaram que o inibidor PCMB (inibidor de cisteína-peptidases) causou a inibição de 50% da atividade. Tal fato também foi observado em nosso trabalho, na linhagem 11D40, na qual foi verificada uma predominância de metalopeptidases, mas E-64, um inibidor de cisteína-peptidase, causou a inibição parcial de algumas peptidases. Esta inibição pode ter sido causada pela modificação de um resíduo de cisteína próximo ao sítio ativo. Kubota et al. (2005) também verificaram a produção de uma serina-peptidase em *A. niger* com aproximadamente 54kDa. Quanto a presença de metalopeptidases, há apenas uma peptidase desta classe descrita por Basten et al. (2001).

Com a metodologia utilizada não foi detectada a presença de arpático-peptidases, apesar de haver relatos na literatura da sua expressão por algumas linhagens de *A. niger*.

CONCLUSÃO

Peptidases extracelulares têm alto valor comercial e múltiplas aplicações em vários setores industriais, como a indústria de alimentos e de remanejamento de resíduos. A linhagem *A. niger* 9D80 foi a que produziu extrato enzimático com maior atividade proteolítica (148U/mL), assim como um perfil proteolítico mais intenso na zimografia. Os resultados obtidos, em especial por *A. niger* 9D80, indicam possibilidades para o aproveitamento industrial das penas de frango como suplemento protéico em ração animal, aumentando o valor agregado deste subproduto, ou mesmo pela utilização deste substrato de baixo custo, como fonte de carbono para a produção de peptidases por *A. niger* por fermentação submersa.

AGRADECIMENTOS

Ao MCT-CNPq, FAPERJ, CEPG-UFRJ e EMBRAPA pelos suportes financeiros.

REFERENCIA

- Barone, J. & Schmidt, W.F. 2006. Effect of formic acid exposure on keratin fiber derived from
- Basten, D.E.J.W., Visser, J. & Schaap, A. J. 2001. Lysine aminopeptidase of *Aspergillus niger*. *Microbiology*, 147, 2045-2050.
- Basten, D.J.W., Moers, A. P. H. A., van. Ooyen A. J.J. & Schaap, P.J. 2005. Characterisation of *Aspergillus niger* prolyl aminopeptidase. *Mol Gen Genomics* 272: 673-679.
- Bon, E., Vermelho, A B, Edit. Said, Suraia & C. L. R. Pietro. Rosemeire. 2004. Enzimas como Agentes Biotecnológicos. Capítulo Editora Legis Summa, Ltda.
- Friedrich, J. Gradisar, H., Chaumont, J.P. 1999. Screening fungi for synthesis of keratinolytic enzymes. *Letters Applied Microbiology* 38:127-130.
- Grywnowicz, G., Lobarzewski, J., Wawrzekiewicz, K. & Wolski, T. 1989. Comparative characterization of proteolytic enzymes from *Trichophyton gallinae* and *Trichophyton verrucosum*. *J. Med. Veterinary Mycol*, 27: 319-328.
- Hanspal JS, Bushell GR, Ghosh P. 1983. Detection of protease inhibitors using substrate-containing sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *Anal Biochem*;132(2):288-93.
- Thomas, R.W.A.P., Rosa, S., Bicca, F.C., Coppeti, C.P.S., Fonseca, A.S.K., Termignoni, C. Gaylarde, C.C. 1995. Keratinase production by bacterial isolates from a chicken feather meal factory. In "Biodeterioration and Biodegradation 9" (A. Bousher, M. Chandra, and R. Eadyvean, Eds.), pp. 400-406. Institution of Chemical Engineers, Rugby, UK.
- Gibson, G. R. (1999). Dietary modulation of the human gut microflora using the prebiotics oligofructose and inulin. *The Journal of Nutrition*, 129 (Suppl. 7), 1439s-1441s.
- Ichida, J. M., Krizova, L., LeFerve, C. A., Keener, H. M., Elwell, D. L., Burt Jr., E. H. 2001. Bacterial inoculum enhances keratin degradation and biofilm formation in poultry compost. *J. of Microbiological Methods*. 47:199-208.
- Kubota, K., Tanokura, M., Takahashi, Kenji. 2005. Purification and characterization of a novel prolyl endopeptidase from *Aspergillus niger*. *Proc Japan Acad*, 81: 447-453.
- Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A.L. Farr and R. J. Randall, 1951. Protein measurement with the Folin-Phenol reagents. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- Moura, C.C. 1994. Farinha de penas e sangue em rações para suínos em crescimentos. *Rev. Soc. Brás. Zootec. Viçosa*. v 23:633-641
- Onifade, A A, Al-Sane, N A, Al-Musallam, AL- Zarban, S.1998. Review: Potentials for biotechnological applications of keratin-degrading microorganisms and their enzymes for nutritional improvement of feathers and other keratins as livestock feed resources. *Bioresource. Technology*, 66: 1-19
- Riffel, A., Lucas, F.S., Heeb, P., Brandelli A. 2003. Characterization of a new keratinolytic bacterium that completely degrades native feather keratin. *Archives of Microbiology* 179: 258-265.
- Santos, R.M.D.B., Almeida, J. e Félix, C.R. 1995. Degradação microbiana da queratina, Anais do ENZITEC 95, Organização. Instituto de Química-UFRJ.
- Wawrzekiewicz, K., Lobarzewski, J & Wolski, T. 1987. Intracellular keratinase of *Trichophyton gallinae*. *Journal of Medical and Veterinary Mycology*, 25: 261-268.
- Scapim .M.R., Loures, EG., Rostango, H. Cecon, P., Scapim, C.A. 2003. Avaliação nutricional de farinha de penas e de sangue para frangos de corte submetida a diferentes tratamentos térmicos. *Acta Scientiarum animal Sciences*, v25, p91-98
- Shih, J.C.H. 1993. Recent Development in Poultry Waste Digestion and Feather Utilization - A Review. *Poultry Science* 72:1617-1620.
- Suntornsuk, W. & Suntornsuk, L.2003. Feather degrading by *Bacillus* FK 46 in submerged cultivation. *Biosource Technology* 86:239-243.

USO DE FERRAMENTAS MOLECULARES PARA GARANTIA DA QUALIDADE DE ALIMENTOS PRODUZIDOS À BASE DE MAMÃO

Peron, F.N.^{1,3}, Matos, A.³, Oliveira, E.M.M.³, Barros, N.E.F.^{2,3}, Batitucci, M.C.P.¹, Fonseca, M.J.O.³, Freitas-Silva, O.³

¹Universidade Federal do Espírito Santo, Instituto de Biologia.

²Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas.

³Embrapa Agroindústria de Alimentos.

Rio de Janeiro, RJ – Brasil. e-mail: edna@ctaa.embrapa.br

Keywords: PCR, *Carica papaya*, papaína, CTAB, DNeasy

RESUMO

O Brasil é o maior produtor mundial de mamão (*Carica papaya*), ocupando a terceira colocação no mercado exportador mundial. A importância nutricional do mamão está associada à presença de altos teores de vitamina A e C, ferro, cálcio e fibras que regularizam o trato digestivo. Estas características impulsionaram o mercado a investir nos produtos processados, garantindo o acesso à fruta por consumidores de toda faixa etária. O uso de técnicas moleculares para detecção de mamão, para garantir a qualidade e possíveis fraudes torna-se extremamente promissora. Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar a aplicação de 3 (três) métodos para a extração de DNA genômico de folha, polpa, e produtos processados, no que tange à pureza e amplificabilidade das amostras de DNA isolado. Os métodos empregados foram baseados em CTAB (Cardarelli *et al.*, 2005)¹, em CTAB contendo beta-mercaptoetanol (EMBRAPA, 1998)² e o Kit comercial DNeasy^{®3}. Os resultados obtidos indicaram que os três métodos testados foram eficientes na extração do DNA total. A concentração de DNA obtido foi determinada por espectrofotometria de ultravioleta a 260 nm e a qualidade pela razão das absorvâncias 260/280. Quanto à quantidade de DNA extraído, os métodos (1) e (2) apresentaram um rendimento (7,3 ± 2,3) µg/100 mg, enquanto o método (3) (83,0 ± 48,9) µg/100mg. Os primers para actina e papaína foram utilizados para verificar a amplificabilidade através da reação em cadeia da polimerase, produzindo amplicons de 374 e 51 pb, respectivamente. Os extratos obtidos das folhas e polpa apresentaram amplificação para os dois alvos. Já os produtos processados só apresentaram amplificação para a papaína, uma vez que o DNA desses produtos encontra-se num nível maior de degradação. Estes resultados evidenciaram que a PCR pode ser utilizada para a garantia da qualidade de alimentos processados, no que tange a presença de polpa (produto natural) de mamão.

INTRODUÇÃO

O mamão (*Carica papaya* L), é uma fruta presente em regiões tropicais e subtropicais do mundo. Atualmente, O Brasil é o maior produtor mundial de mamão, representando 30% do total produzido, e o terceiro exportador mundial, depois do México e da Malásia (SEAGRI, 2006). Apesar da contínua tendência de crescimento da exportação, a fragilidade da fruta torna-se uma dificuldade para a comercialização. Diversas medidas de pós-colheita são utilizadas para a manutenção da qualidade do fruto, tanto pela redução da taxa metabólica como pela inibição do desenvolvimento de patógenos (COSTA E BALBINO, 2002). Todavia, a cultura do mamoeiro sofre diversos problemas fitossanitários e no Brasil, as viroses constituem o principal grupo de patógenos que causam doenças em mamão podendo infectar até 100% da lavoura em poucos meses (TAVARES *et al.*, 2004). Uma alternativa para o controle dessas viroses foram as modificações genéticas que tornaram estes frutos mais resistentes, a exemplo do que foi realizado pela Universidade de Cornell (EUA) em colaboração com a Universidade do Havaí, que produziu os primeiros mamoeiros transgênicos resistentes ao vírus da mancha anelar PRSV - *Papaya ringspot virus* (GONÇALVES, 1998). Entretanto, o consumo de mamão geneticamente modificado não é aceito em todos os países, o que reforça a necessidade de aumentar os esforços para garantir a produção e a qualidade de variedades convencionais.

A importância nutricional do mamão está associada à presença de altos teores de vitamina A e C, ferro, cálcio e fibras que regularizam o trato digestivo. Estas características impulsionaram o mercado a investir nos produtos processados, aumentando o valor agregado desta commodity, além de garantir o acesso à fruta por consumidores de toda faixa etária através do consumo de bebidas lácteas, bebidas a base de soja, preparados de vitamina (farinhas), barra de cereais, alimentos infantis, iogurtes entre outros.

Diante deste cenário, este trabalho teve como objetivo implementar e avaliar três diferentes protocolos de extração de DNA genômico de produtos processados à base de mamão e posterior detecção do gene endógeno para o mamão (papaína), através da reação em cadeia da DNA polimerase (PCR), garantindo a presença de mamão.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras

As amostras de folha e a polpa do mamão foram utilizadas como controle positivo de extração. Os produtos processados analisados foram adquiridos no mercado local, sendo uma unidade de papinha de frutas (alimento infantil) (A), bebida láctea (B) e iogurte (C). A polpa foi previamente seca em estufa por 24 horas a 40°C.

As amostras de DNA foram obtidas empregando-se os seguintes métodos: CTAB (Cardarelli *et al.*, 2005)¹, CTAB contendo β-mercaptoetanol (EMBRAPA, 1998)² e o Kit comercial DNeasy^{®3}. A Tabela 1 apresenta a descrição dos protocolos.

Análise por espectrofotometria de UV

A concentração dos extratos de DNA de todas as amostras obtidos pelos métodos (1), (2) e (3) foram determinadas por espectrofotometria de ultravioleta (BIORAD), em comprimento de onda igual a 260 nm (A₂₆₀).

Eletroforese em gel de agarose

Em microtubos foram adicionados 2,5 µl de azul de bromofenol, adicionou-se 10 µl de solução de DNA genômico. Em seguida as amostras foram aplicadas no gel de agarose 1,5% e a eletroforese foi conduzida sob 150V e 150mA por 90 min. Após a corrida, o gel foi fotodocumentado no equipamento VILBERT LOUMAT (Biosystems, Curitiba, PR).

Tabela 1: Descrição dos protocolos utilizados para extração de DNA genômico.

Protocolo	Tempo de extração	Condições de incubação	Precipitação	Purificação	Solução final
CTAB	2% CTAB, 1,4M HAcI, 20mM EDTA, 100mM Tris-HCl (pH 8)	75°C por 90 min (agitação a cada 15min)	0,5% CTAB, 0,04M HAcI + isopropanol	desorbimento + HAcI 1,2M + Etanol 70%	50 mL em H ₂ O
CTAB com β-mercaptoetanol*	2% CTAB, 1,4M HAcI, 20mM EDTA, 100mM Tris-HCl (pH 8) + 7 β-mercaptoetanol	75°C por 60 min (agitação a cada 15min)	Isopropanol + KCOOH 2M	Etanol 70%	50 mL em TE
DNeasy ^{®3}	Tampão AFI (detergente) + proteinase K + RNase + AF2 (precipitação dos DNA)	65°C por 180 min	Membрана em sílica gel + AF3	Membрана em sílica gel + tampão AW	200 mL em AE

* Protocolo EMBRAPA modificado, onde a quantidade de amostra inicial passou de 3 g para 100 mg.

Amplificabilidade do DNA isolado

As amostras de DNA foram utilizadas como *template* para a PCR, que teve como *primers* os do gene endógeno do mamão (papaina) e do gene para actina de produtos vegetais, cujos amplicons esperados são de 51pb e 374 pb, respectivamente. As condições de reação foram definidas pelo Kit PCR Mastermix (Invitrogen), onde foram adicionados 45 µL do Mastermix, 1µL de cada *primer* e 3 µL de DNA, com a ciclagem: 95°C/7min, 95°C/1min, 65°C/1min, 72°C/1min, 72°C/10min para a papaina com a temperatura de anelamento de 52°C.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A determinação da concentração do DNA total por espectrofotometria de UV só pôde ser concluída para os extratos de polpa e da folha, apresentando uma concentração média para ambos de (7,3 ± 2,3) µg/100 mg para os métodos (1) e (2), e de (83,0 ± 48,9) µg/100mg para o método (3). A quantidade de DNA obtido dos produtos processados estava abaixo do limite de detecção do espectrofotômetro usado. Estes resultados mostram a importância da utilização de amostras-controladas no desenvolvimento de metodologias, pois estes servem como indicadores na tomada de decisões.

Apesar da obtenção de DNA total de todos os métodos avaliados neste estudo, a visualização só foi possível após a amplificação do gene para a actina (FIGURA 1). Pode-se observar que, para os três métodos usados, a amplificação ocorreu apenas para as amostras de DNA isolados a partir de folha e polpa. A ausência de amplificação da actina para os produtos industrializados deve-se ao fato de estes apresentarem DNA degradado em virtude do nível de processamento, não sendo possível a síntese de um amplicon com 374 pb.

Para garantir a presença do mamão em todas as amostras, a PCR foi novamente conduzida utilizando como alvo a papaina, cujo amplicon esperado é de 51pb. A Figura 2 revela que a amplificação da papaina ocorreu para todas as amostras, inclusive os produtos processados.



Figura 1- Amplificação do gene para actina usando como *template* os extratos de DNA obtidos, a partir de polpa e folha, usando os métodos 3 (linha 1 e 2), método 1 (linha 7 e 8) e método 2 (linha 14 e 15). Padrão 25pb (linhas 6 e 13).



Figura 2- Amplificação do gene para papaina usando como *template* os todos os extratos de DNA obtidos, usando os métodos 1 (linhas 2 a 6), método 2 (linhas 7 a 11) e método 3 (linha 14 a 18). Padrão 25pb (linhas 1 e 12). Branco (linha 13)

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstram que a adaptação do método CTAB com beta-mercaptoetanol foi muito bem sucedida, representando um avanço na aplicação de técnicas moleculares para a análise de produtos processados, os quais apresentam baixos rendimentos em quantidade de DNA total extraído. Adicionalmente, esta metodologia poderá ser estendida à detecção e quantificação de variedades transgênicas, atendendo à legislação de rotulagem dos países importadores e certificando a ausência de produtos geneticamente modificados que sejam alvos de barreiras técnicas.

REFERÊNCIAS

BRASILEIRO, Ana Cristina Miranda; CARNEIRO, Vera Tavares de Campos. **Manual de Transformação Genética de Plantas**. EMBRAPA, 1998.

DELLAPORTA, SL; WOOD J; HICKS JB. **A plant DNA minipreparation: version II**. Plant Mol Biol Rep 1: p. 19-21, 1983.

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). **MAMÃO PÓS COLHEITA**. Frutas do Brasil. p. 9-12, 2002.

GONSALVES, D. **Control of papaya ringspot virus in papaya: A case study**. Annual Review Phytopathology 36: p. 415 - 437, 1998.

IBGE – SIDRA (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – Sistema IBGE de Recuperação Automática). Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/Acesso> em 2004.

LIMA, Roberto C. A. et al. **Etiologia e Estratégias de Controle de Víruses do Mamoeiro no Brasil**. Fitopatologia brasileira 26 (4), p.689 - 702, 2001.

LOPEZ-MALO A, PALOU E, WELTI J, CORTE P, ARGAIZ A. Shelf-stable high moisture papaya minimally processed by combined methods. **Food Research International**, 27 (6), p.545-553, 1994.

MAMÃO TRANSGÊNICO, 2002. Disponível em: <http://www.inventabrasilnet.t5.com.br/mamao.htm>. Acesso em: 11 jan 2007.

ROMANO, Eduardo; BRASILEIRO, Ana. **Extração de DNA em plantas**. Biotecnologia e Desenvolvimento, p. 40-43. Disponível em: <http://uefs.br/disciplinas/bot859/extra.pdf>. Acesso em 2007.

SAMBROOK, J; FRITSCH, EF; MANIATIS, T. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 2ªed. Cold Spring Harbor laboratory Press, New York, 1989.

SECEX (Secretaria do Comércio Exterior)/ MDIC (Ministério do Desenvolvimento Indústria e Comércio). Disponível em: <http://www.mdic.gov.br/Micn001.htm>. Acesso em 2002.

SOUZA JR., M. T. **Analysis of the resistance in genetically engineered papaya against papaya ringspot potyvirus. partial characterterization of the PRSV. Brazil. Bahia isolate, and development of transgenic papaya for Brazil**. (Ph. D. Dissertation). Ithaca, Cornell University, 1999.

TAVARES, Eder T. et al. **Dois Novos Sistemas de Diagnose Precoce de Meleira do Mamoeiro**. Fitopatologia brasileira. 29 (5), p. 563 – 566, 2004.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO. Biblioteca Central. **Normalização e apresentação de trabalhos científicos e acadêmicos: Guia para alunos, professores e pesquisadores da UFES**. 7ª ed. Vi

PRODUCCIÓN DE XILANASAS POR *Aspergillus niger* EN FERMENTACIÓN EN BIOPELÍCULAS Y ESTADO SÓLIDO EN SOPORTE INERTE

N. N. Gamarra & M. Gutiérrez-Correa

LABORATORIO DE MICOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA, UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA-LIMA.

Av. La Molina s/n La Molina, Lima, Perú

(Fax: 511 349-56-78, nngamarram@hotmail.com)

Palabras claves: Actividad Xilanasas, *Aspergillus niger*, fermentación en biopelículas, fermentación sumergida, fermentación en estado sólido.

RESUMEN

El propósito del trabajo fue comparar tres condiciones diferentes de fermentación de *Aspergillus niger* para la producción de xilanasas. Se utilizó perlita como soporte inerte para la adhesión fúngica a la superficie sólida en la fermentación en estado sólido (SSF) y en biopelículas (BF) que fueron comparadas con la fermentación sumergida en medio líquido (SmF). La fermentación en biopelículas alcanzó un mayor nivel de actividad enzimática que en estado sólido y sumergido en 72 h de incubación, siendo de 8566,78 vs 7058,46 y 5050,87 IU/l, respectivamente. Adicionalmente los rendimientos y productividad volumétrica de xilanasas fueron significativamente mayores, excepto en el rendimiento de xilanasas por formación de proteínas no era significativo comparado al de SSF. Las condiciones de interacción célula - superficie sólida de la perlita utilizada en biopelículas responde a una mejor producción de la enzima.

INTRODUCCIÓN

Las Endo- β -1,4-xilanasas son principalmente responsables para la hidrólisis enzimática al azar de los enlaces glicosídicos de la cadena principal del xilano (Kalogeris *et al.*, 1998). Esta enzima se usa en la industria alimentaria en la clarificación de jugos y vinos, licuefacción de mucílagos de café; extracción de saborizantes y pigmentos, aceites de plantas y semillas; maceración de material vegetal; acondicionamiento de piensos para aves y cerdos y en la industria de la panificación para mejorar su textura y sabor. Otra aplicación importante de las xilanasas es en la industria de la pulpa y papel en el proceso de biobleaching (biobleaching) lográndose realizar la brillantez de las pulpas y disminuir la cantidad de cloro o dióxido de cloro utilizado en las etapas de blanqueo, algunas de estas sustancias son tóxicas y bioacumulativas que causan numerosos daños en los sistemas biológicos. Estos problemas de contaminación ambiental, hizo que numerosas fábricas a nivel mundial orienten el uso de xilanasas en procesos completos de blanqueo, incluyendo en papelería para revistas y con determinado tejido que son manufacturado con pulpas tratadas enzimáticamente e introducidas al mercado con éxito (Ponce y Pérez, 2002). Esta enzima es producida por muchos microorganismos como hongos y bacterias. Los hongos son productores potenciales (Señor *et al.*, 1988) de endoxilanasas y existen varias especies fúngicas incluyendo el *Aspergillus niger*, se han realizado estudios de producción por fermentación en estado sólido (SSF) usando subproductos agrícolas (Kaloregis *et al.*, 1998) y en micelio sumergido (SmF) (Lucena-Neto, 2000; Ryan *et al.*, 2003), sin embargo hay pocos estudios en sistemas de fermentación en biopelículas (BF).

En la naturaleza predomina el crecimiento de microorganismos en superficies colonizadas formando biopelículas. Las biopelículas representan el hábitat natural de los microorganismos, muestra una tendencia innata a inmovilizarse o adherirse en estructuras sólidas y organizarse en ellas en comunidades complejas capaces de fabricar excedentes de determinadas sustancias. En estas condiciones presentan un comportamiento fisiológico y morfológico diferente al de cultivo sumergido. La fermentación fúngica en estado sólido y en biopelículas (BF) forma una nueva categoría de

fermentación denominada fermentación por adhesión a superficie (SAF) (Gutiérrez-Correa, 2003).

La habilidad de los hongos filamentosos de crecer en medio líquido y sustrato sólido y su capacidad de sintetizar y secretar grandes cantidades de enzimas extracelulares, y no existiendo reportes comparativos de cultivos en tres sistemas de fermentación, en el presente estudio sugiere comparar la producción de xilanasas por *Aspergillus niger* en cultivo sumergido, biopelículas y estado sólido.

MATERIALES Y MÉTODOS

Microorganismo y medio de cultivo

Aspergillus niger ATCC 10864 se utilizó para el estudio. El inóculo se obtuvo cultivando las esporas en frascos de 250 ml con agar papa dextrosa (PDA) por 5 días, y cosechadas con solución Tween 80 al 0.1 % (w/v). El medio de cultivo para el crecimiento y producción de xilanasas tenía la siguiente composición en $g\ l^{-1}$ (Duff, 1988): KH_2PO_4 2, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.3, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.3, $(NH_2)_2CO$ 0.3, $(NH_4)_2SO_4$ 1.4, peptona 1, lactosa 10, Tween 80 0.2 (%v/v) y microelementos en $mg\ l^{-1}$ $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 5, 1.6, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.4, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 2. pH inicial del medio 5.5, se esterilizó a 120 °C x 15 min.

Soporte Inerte para SSF y BF

Se utilizó Perlita (marca Schultz®), los tamaños promedios seleccionados, previamente molidos y tamizados de las partículas fueron para SSF y BF de 1.7 y 2.5 mm, y cantidades de 4 y 0.48 g/frasco, respectivamente. Las partículas eran lavadas con agua potable, destilada, y secadas a 90 °C por 20 h. Los frascos de 250 ml eran esterilizados por 15 min. en 121 °C y enfriados a temperatura ambiente.

Inoculación e incubación para la SmF, BF y SSF

Para la fermentación sumergida y en biopelículas se utilizó frascos de 250 ml, con 70 ml de medio de cultivo y 3 % (v/v) de inóculo con una suspensión de 1×10^6 esporas/ml. Para el cultivo en biopelículas previamente se realizó la impregnación de esporas en 0.48 g de perlitas, con 20 ml de agua destilada estéril y agitación de 125 rev. min^{-1} por 30 min. Las esporas no adheridas eran lavadas dos veces, cada uno con 20 ml de buffer citrato pH 4.8 50 mM, agitadas a 125 rev. min^{-1} por 30 min.

Luego eran adicionadas 70 ml de la solución nutritiva para ambos sistemas de cultivo, la incubación se realizó a 28°C en baño agitado a velocidad arriba mencionada. Para los ensayos de cinética de producción de xilanasas se tomó muestras cada 24 h sobre un total de 120 h., para cada tiempo se probó 4 frascos. Para la fermentación en estado sólido se utilizó frascos de 250 ml con 4 g de perlita fueron impregnados con 9 ml de solución nutritiva conteniendo la fuente de carbono (lactosa), se dejó en reposo por una hora. Luego eran inoculadas con 1.5 ml de una suspensión de 1×10^6 esporas/g de soporte, con el cual se ajustó el contenido de humedad de 74 (%w/v). La incubación se llevó a cabo a 28 °C en una cámara con humedad controlada.

Extracción de la enzima

De la SSF, la extracción de la enzima se realizó utilizando 30 ml de buffer acetato 50 mM, pH 4.8, con agitación constante por 10 min., luego se filtró con papel filtro Whatman No 1[®] y el sobrenadante colectado era almacenado a 4 °C.

Métodos analíticos

La actividad xilanasa total se determinó por el método de Ghose (1987). Una unidad de enzima (UI), se define como la cantidad de enzima que libera 1 μmol de azúcar reductor por minuto. Los azúcares reductores liberados de la hidrólisis se determinó por el método Miller (1959) utilizando ácido 3,4-dinitrosalicílico.

Los datos de la producción de xilanasa total de los tres sistemas de fermentación se evaluaron mediante un diseño completo aleatorio (DCA) con un análisis de varianza (ANOVA), y los promedios fueron comparados con la prueba de Duncan a un nivel de significancia de $P < 0.01$. Para ello se utilizó el software del Statistical Analysis System (SAS)[®] (versión 8.1). Se ha utilizado la ecuación Logística y de Luedeking y Piret (1959) para estimar los parámetros cinéticos, adecuar los datos experimentales y predecir el comportamiento del proceso de producción de xilanasas. La producción de biomasa se estimó como $X(g/l)$, por la ecuación logística que monitorea el crecimiento dinámico del microorganismo.

$$\frac{dX}{dt} = \mu \left[1 - \frac{X}{X_m} \right] X \tag{1}$$

Donde μm es la tasa de crecimiento específica máxima (h^{-1}) y X_m es el nivel de biomasa máxima alcanzada cuando $dX/dt = 0$ para $X > 0$. La solución de la ecuación 1 es:

$$X = \frac{X_m}{1 + C e^{-\mu t}} \tag{2}$$

y $C = (X_m - X_0)/X_0$, X_0 es la condición inicial de X cuando $t = 0$.

La producción de xilanasas (E): estimada *en* (IU/l) mediante el modelo de Luedeking y Piret.

$$\frac{dE}{dt} = Y_{E/X} \frac{dX}{dt} + kX \tag{3}$$

Donde: $Y_{E/X}$ (IU/g) es el rendimiento de producto por biomasa producida y K (IU/g.h) es el coeficiente de formación ($K > 0$) o alteración ($K < 0$) del producto. Resolviendo la ecuación 3 como función de X se tiene:

$$E = E_0 + Y_{E/X} X - X_0 + \frac{kX_m}{\mu m} \ln \left[\frac{X_m - X}{X_m - X_0} \right] \tag{4}$$

$E_0 = E$ cuando $X=X_0$, el valor de E puede determinarse como función de $X(t)$ obtenido con la ecuación 2.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comparación de la producción de xilanasas

La correlación de la actividad de xilanasas (IU/l) en función del tiempo (figura 1) de los tres sistemas de fermentación se adecua al modelo de Luedeking y Piret ($R^2 > 0.98$). Los títulos de máxima actividad xilanasa (E) fueron en biopelículas a las 72h (figura 2), aproximadamente de 1,7 y 1,2 es significativamente mayor que los cultivos sumergido y estado sólido (Tabla 1). La figura 3 muestra la producción de xilanasas en biopelículas, la concentración se incrementa durante el tiempo de fermentación hasta las 72 h, contrariamente la concentración de lactosa residual decrece coincidiendo con el tiempo de producción de xilanasas.

La producción de xilanasas muestra una tendencia lineal en las primeras horas de fermentación en los tres sistemas, la pendiente del comportamiento lineal expresa el rendimiento de xilanasas por unidad de biomasa formada ($Y_{E/X}$), el cual fue estimado de la ecuación 3. En BF este rendimiento (tabla1) fue de 1.5 y 1.8 veces mayor con respecto al cultivo sumergido y estado sólido, respectivamente. Además, en BF el rendimiento de xilanasas por unidad de sustrato consumido ($Y_{E/S}$) y la productividad volumétrica de xilanasas ($Y_{E/V.h}$) es significativamente diferente a los valores obtenidos en SmF y SSF y el rendimiento de xilanasas por formación de proteína ($Y_{E/P}$) era similar al de SSF pero mayor al de SmF. Villena and Gutiérrez-Correa (2007) obtuvieron con *Aspergillus niger* en condiciones normales de actividad de agua la mayor

actividad xilanolítica en BF (4.61 IU. ml⁻¹) que en SmF (2.45 IU.ml⁻¹). Asimismo Ichi *et al.*, (2002) obtuvieron una alta producción de xilanasas 2 (XIL 2) en SSF que en SmF, mientras que la producción de XIL 1 era casi constante; la producción de XIL 2 se incremento a 6 IU. ml⁻¹ cuando se disminuyó la actividad de agua a 33% en SSF y en SmF alcanzaron a 2,0 IU. ml⁻¹.

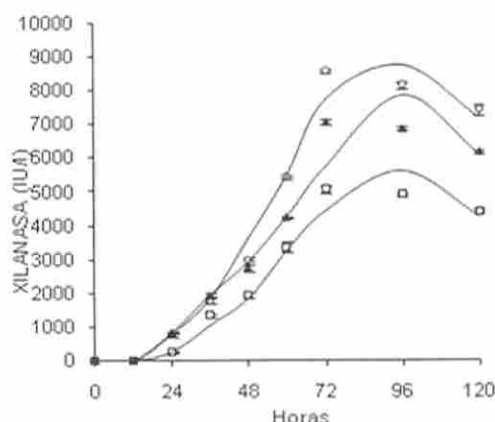


Figura 1. Producción de xilanasas por *Aspergillus niger* ATCC 10864 en micelio libre (squares), biopelículas (circles) y estado sólido (triangles). Los símbolos corresponden a los datos experimentales y las líneas continuas al modelo de Luedeking y Piret.

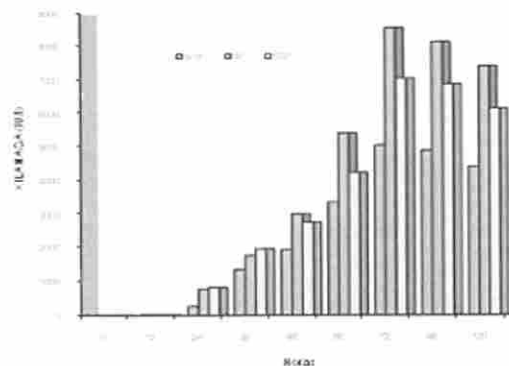


Figura 2. Comparación de títulos de actividad de xilanasa producido por *Aspergillus niger* ATCC 10846 en tres sistemas de fermentación.

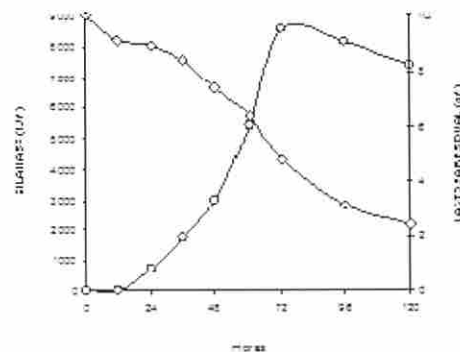


Figura 3. Fermentación en Biopelículas (BF) de *Aspergillus niger* ATCC 10864, o producción de xilanasa, o lactosa residual

Tabla 1. Comparación de la máxima actividad de xilanasas de *Aspergillus niger* en tres sistemas de fermentación

Sistema de Fermentación	E (U/l)	YE/X (U/g)	YE/S (U/g)	YE/Pr (U/g)	δE (U/l.h)
SmF	5050.87±124.87 ^a	4617.2 ±406.8 ^b	918.36 ±25.88 ^a	15729.8 ±452.9 ^b	70.15 ±1.73 ^a
BF	8566.78±62.56 ^a	7067.8 ±453.9 ^a	1793.66 ±50.64 ^a	23610.8±244.32 ^a	118.98 ±0.86 ^a
SSF	7058.46±18.64 ^b	3843.9 ±312.2 ^c	1307.9 ±30.91 ^b	23255.8±362.20 ^a	98.03 ±1.08 ^b

Valores promedios de cuatro repeticiones ± desviación estándar. Los datos fueron sujetos a ANOVA y los promedios fueron comparados por Duncan a un nivel de significancia $P < 0.01$. Los promedios con la misma letra no son significativamente diferentes.

Es conocido que la actividad de agua en el medio influye no solo en el crecimiento celular si no también en la producción de enzimas extracelulares (Narahara *et al.*, 1982). Otros estudios de producción de xilanas por *Thermoascus aurantiacus* en SSF fue incrementado optimizando la fuente de carbono y nitrógeno, niveles de humedad y tamaño de partícula de la fuente de carbono, bajo estas condiciones alcanzaron una alta producción de 6.193 IU.g⁻¹ de fuente de carbono (Kalógeris *et al.*, 1998). Los cultivos en biopelículas y en estado sólido están sujetos a adhesión célula – superficie sólida y muestran ventajas sobre el micelio libre (Viniestra-González *et al.*, 2003), muchos estudios han relacionado esta interacción fisicoquímica con los niveles de mayor productividad del proceso de fermentación, aunque el mecanismo de una mayor secreción del metabolito de interés no está bien definido, sugieren que el crecimiento de hongos filamentosos adheridos a superficie sólida forman biopelículas y suponen una expresión diferencial de genes que se traduce en la mayor producción de enzimas (Gutiérrez-Correa, 2003). Las condiciones de células inmovilizadas modifican el comportamiento fisiológico y las características morfológicas del micelio fúngico y los efectos visibles de esta interacción comprenden cambios en el crecimiento, apariencia morfológica, producción metabólica, pigmentación micelial y viabilidad micelial bajo condiciones de inanición, etc. (Nava *et al.*, 1989).

CONCLUSIONES

El efecto de la adhesión del micelio a la superficie sólida de la perlita de los cultivos de biopelículas y en estado sólido dio lugar a una expresión metabólica diferente, donde la producción de xilanasas resultó significativamente mayor en biopelículas comparado al de micelio libre y estado sólido.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo fue auspiciado por INCAGRO(Ministerio de Agricultura del Perú).

REFERENCIAS

Duff J. (1988). Use of surface – immobilized *Trichoderma* in batch and fed – batch fermentation. *Biotechnol. Bioeng.* 31: 345 – 348.
 Ghose T. (1987) Measurement of cellulolytic activities. *Pure & Appl. Chem.* 59(2): 257 – 268.
 Gutierrez-Correa M. (2003). Opinion on Surface adhesion fermentation. *Agri-Food Research and News.* 1(1):11-12.

Ichii Y. Y, Fujita J, Ichii S. R, Hi Y. A, Fukuda H, Kizaki Y and Wakabayashi S. (2002) Production of cellulases and xylanases- Degrading Enzymes by a koji Mold, *Aspergillus oryzae*, and their contribution to the maceration of Rice Endosperm cell wall. *Journal of Bioscience and Bioengineering.* Vol. 93. No 1, 9-14.
 Kalógeris E., Christakopoulos P, Kekos D., Macris B. J. (1998) Studies on the solid-state production of thermoestable endoxylanase from *Thermoascus aurantiacus*: Characterization of two isozymes.
 Luedeking, R and Piret, E. L. (1956) A kinetic study of the lactic acid fermentation batch process at controlled pH. *J. Biochem Microbiol Tech and Engineering* 1(4): 393-412.
 Lucena-Neto S., Ferreira-Filho E. (2000) Purification and characterization of a new xylanase from *Humicola grisea* var. *Thermoidea*. *Brazilian Journal of Microbiology* 1, 1-7.
 Miller G. (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination reducing sugar. *Anal Chem.* 31(3): 426 – 428.
 Nava S. J. E, Barbotin J-N. And Thomas D. (1989) Physiological and morphological immobilized *Gibberella fujikuroi* mycelia. *Applied and Environ Microbiol.* Vol. 55. No 9: 2377-2384.
 Ponce N. T y Pérez A. O. (2002) Celulasas y xilanasas. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del CINVESTAV. 274.
 Narahara H., Koyama Y., Yoshida T., Pichangkura S., Ueda R. and Taguchi H. (1982) Growth and enzyme production in a solid-state culture of *Aspergillus oryzae*. *J. Ferment Technol.* 60, 311-319.
 Ryan E. S, Notan K, Thompson R., Gubitz G. M., Savage V. A, Tuohy G. M. (2003) Purification and characterization of a new low molecular weight endoxylanase from *Penicillium capsulatum*. *Enzyme and Microbial Technology.* 33, 775 – 785.
 Senior D., Mayers P.R., Miller D., Sutcliffe R., Tan L., Saddler J. N. (1988) Selective solubilization of xilan in pulp using a purified xylanase from *Trichoderma harzianum*. *Biotechnol. Lett.* 10, 907-912.
 Villena G. K, Gutiérrez-Correa M. (2007) Production of lignocellulolytic enzymes by *Aspergillus niger* biofilms at variable water activities. *Electronic Journal of Biotechnology.* Vol.10 No.1.
 Viniestra-González G, Favela –Torres E, Aguilar C. N, Romero-Gómez S. J, Díaz-Godínez G, Augur Ch. (2003). Advantages of fungal enzyme production in solid state over liquid fermentation systems. *Biochem. Engin. J.* 13:157-167.

**PRODUCCIÓN DE JARABE DE GLUCOSA
A PARTIR DE ALMIDÓN DE TIQUISQUE (*Xanthosoma sagittifolium*)**

Hernández-Peñaranda, Alicia y Quesada-Salazar, Melissa.
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
CENTRO DE INVESTIGACIONES EN PRODUCTOS NATURALES
CIPRONA
CIUDAD DE LA INVESTIGACIÓN, MONTES DE OCA
SAN JOSÉ, COSTA RICA. Email: aliciah@cariari.ucr.ac.cr

Palabras clave: jarabe de glucosa, licuefacción, sacarificación, amiloglucosidasa, *Xanthosoma sagittifolium*.

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue buscar una alternativa para utilizar el tiquisque de rechazo producido en Costa Rica y obtener jarabe de glucosa -un producto que se emplea en nuestro país y que se debe importar. Se utilizó almidón de tiquisque blanco extraído previamente en el CIPRONA y se estudió la licuefacción y la sacarificación. Se determinó que la licuefacción se debe llevar a cabo a 90°C por 60 min, utilizando una concentración de enzima de 0.75 mL enzima/kg sustrato y una concentración de sustrato del 30%. Una vez definidos los parámetros de la licuefacción se estudió la sacarificación y se estableció una concentración de enzima de 0.90 mL enzima/kg sustrato durante 20 horas a 60°C. Posteriormente se estudió el proceso de purificación y se definió que se requiere una etapa de centrifugación, una de clarificación con carbón activado, una filtración con celite y tratamientos con resinas de intercambio iónico. Se produjo un jarabe con un grado de pureza cercano al 100% por lo que se concluye que el tiquisque puede ser utilizado para la producción de jarabes de glucosa.

INTRODUCCIÓN

Los jarabes de glucosa son ampliamente utilizados en la industria alimentaria y se obtienen generalmente a partir de almidón de maíz. La producción enzimática de jarabes de glucosa conlleva la hidrólisis del almidón en dextrinas en un proceso denominado licuefacción y posteriormente la hidrólisis de estos compuestos en unidades de glucosa en la sacarificación. En Costa Rica, no se producen pero su consumo crece día a día. Por otro lado, en nuestro país se producen una gran variedad de productos agrícolas con alto contenido de almidón, entre ellos el tiquisque (*Xanthosoma sagittifolium*). La producción de tiquisque en Costa Rica está prácticamente dedicada a la exportación, motivo por el cual se genera una gran cantidad de material que no cumple con las características para ser exportado, por lo que se utiliza para consumo local y alimento animal. Por este motivo, se busca en esta investigación, el aprovechamiento de un desecho agroindustrial y la elaboración de un producto de alto valor agregado. El objetivo de este proyecto fue obtener por vía enzimática, un jarabe con alto contenido de glucosa a partir de almidón de tiquisque.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material

Como sustrato se empleó almidón de tiquisque blanco extraído previamente en el CIPRONA. Se utilizaron las enzimas Termamyl® Supra y AMG E de Novo Industries.

Métodos

Se estudió el proceso de licuefacción a nivel de laboratorio en matraces de 125mL con 50mL de suspensión de almidón mediante un diseño factorial 2³, evaluando la concentración de la enzima (Termamyl® Supra: 0.375 y 0.75mL/kg almidón) y del sustrato (25 y 30%), así como el tiempo de acción de la enzima (30 y 60 minutos). La sacarificación se estudió con un diseño factorial 2² evaluando la concentración de la enzima (AMG E: 0.45 y 0.90mL/kg sustrato) y el tiempo de hidrólisis (20 y 24 horas). Los parámetros evaluados en ambos casos

fueron la concentración de: azúcares reductores (Nelson Somogyi), glucosa (AOAC) y los °Brix. Una vez seleccionadas las mejores condiciones experimentales se escaló el proceso a nivel piloto, se procedió a purificar el jarabe y se evaluaron sus propiedades.

RESULTADOS.

Los resultados para la licuefacción del almidón se presentan en el cuadro 1 y las figuras 1 y 2 para las variables de producción de glucosa y de azúcares reductores.

La producción de glucosa (Figura 1) se vio afectada por la interacción entre la concentración de enzima y su tiempo de acción, es decir, al aumentar estas variables, la concentración de glucosa aumenta un 126% (se produce más del doble de glucosa). También se presentó un efecto doble entre la concentración de enzima y la concentración de sustrato. En este caso, al aumentar los niveles de ambas variables, la concentración de glucosa aumentó en un 124% (se produce más del doble de glucosa). La interacción entre el tiempo de acción de la enzima y la concentración del sustrato también fue significativa y la concentración de glucosa aumentó en un 58%.

Tratamiento	Variables respuesta			
	Glucosa (%g/mL)	Azúcares reductores (%g/mL)	Equiv dext (DE)	°Brix
1 (0.375 enz, 30min, 25% sustrato)	2.21	4.03	15.41	24.3
2 (0.75 enz, 30min, 25% sustrato)	3.31	5.43	20.87	23.7
3 (0.375 enz, 60min, 25% sustrato)	2.19	3.30	13.70	24.7
4 (0.75 enz, 60min, 25% sustrato)	3.68	4.57	15.99	23.1
5 (0.375 enz, 30min, 30% sustrato)	2.06	3.16	9.79	32.0
6 (0.75 enz, 30min, 30% sustrato)	3.91	7.12	20.91	31.9
7 (0.375 enz, 60min, 30% sustrato)	2.80	4.71	13.65	32.3
8 (0.75 enz, 60min, 30% sustrato)	6.02	17.33	49.27	31.7

Cuadro 1. Producción de azúcares durante la licuefacción en los diferentes tratamientos

En resumen, la utilización de los niveles altos de las variables estudiadas fue lo que produjo una mayor cantidad de glucosa. Esto es claramente perceptible al observar el resultado obtenido para el tratamiento 8, en el cual se utiliza la mayor concentración de enzima, el mayor tiempo de hidrólisis y una mayor cantidad de sustrato.

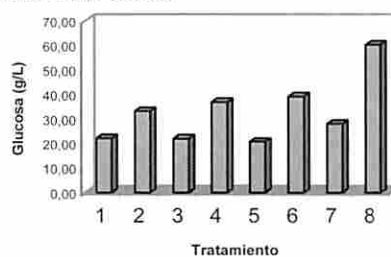


Figura 1. Producción de glucosa durante la etapa de licuefacción

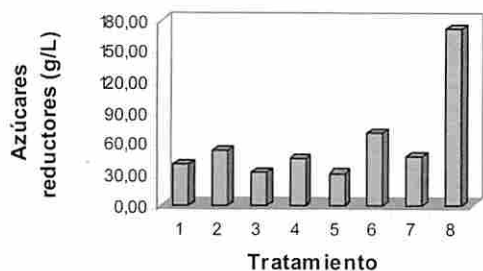


Figura 2. Producción de azúcares reductores durante la licuefacción.

Al evaluar la cantidad de azúcares reductores que se produjeron durante la etapa de licuefacción, se encontró un efecto triple de las tres variables estudiadas (Cuadro 1 y Figura 2). Para esta variable respuesta se presentó un aumento en la producción de azúcares correspondiente al 330% para los tres niveles superiores de las variables; es decir, al usar 0.75 mL enzima/kg almidón, 60 minutos y un 30% en la concentración de sustrato. Este resultado coincidió con los obtenidos para la producción de glucosa. Con base en los resultados obtenidos se seleccionan los parámetros presentados en el cuadro 2 para llevar a cabo la licuefacción del almidón.

Cuadro 2. Parámetros seleccionados para la licuefacción de almidón de tiquisque.

Parámetro	Valor
Concentración de enzima (mL enzima/kg sustrato)	0.75
Concentración de sustrato (%)	30
Tiempo de acción de la enzima (min)	60
Temperatura (°C)	90

Posteriormente se procedió a estudiar la sacarificación y los resultados se presentan en el cuadro 3 y en las figuras 3 y 4.

Cuadro 3. Producción de azúcares durante la sacarificación en los diferentes tratamientos

Tratamiento	Variables respuesta		
	Glucosa (%g/mL)	Azúcares reductores (%g/mL)	°Brix
1 (0.45 enz, 20h)	35.14	35.34	31.2
2 (0.90 enz, 20h)	37.14	38.55	31.3
3 (0.45 enz, 24h)	35.63	37.11	31.8
4 (0.90 enz, 24h)	37.78	40.25	31.7

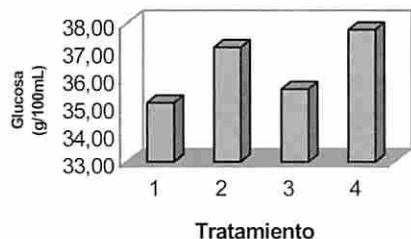


Figura 3. Producción de glucosa durante la sacarificación

La producción de glucosa (Cuadro 3 y Figura 3) solo se vio afectada por la cantidad de enzima utilizada durante la sacarificación. Al aumentar la concentración de enzima, se produjo un 6% más de glucosa con respecto al nivel inferior.

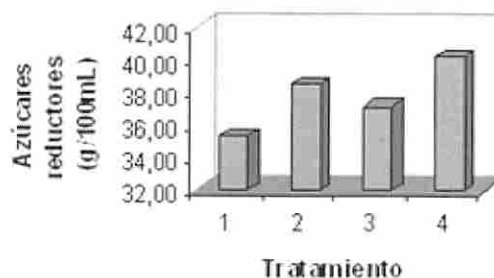


Figura 4. Producción de azúcares reductores durante la sacarificación

La cantidad de azúcares reductores (Cuadro 3 y Figura 4) se vio aumentada significativamente ($p < 0.05$) cuando se utilizó la mayor concentración de enzima. El aumento con respecto a la concentración de azúcares para el nivel menor de la enzima fue del 9%.

Es importante mencionar que el tiempo de hidrólisis no tuvo un efecto significativo sobre ninguna de las variables respuesta. Este resultado es relevante no solo desde el punto de vista económico, sino porque el jarabe se obtiene en un tiempo menor. Por este motivo, se selecciona el tratamiento 2, es decir el que utiliza la mayor cantidad de enzima y el menor tiempo de hidrólisis. Además, a pesar de que sí hubo diferencias significativas en cuanto a la cantidad de enzima a usar, el aumento en las cantidades de glucosa no fue muy grande. Por este motivo se sugieren dos alternativas:

- Evaluar en términos económicos el proceso en forma global, para ver si el obtener esa mayor cantidad de glucosa justifica el uso de una mayor cantidad de enzima.
- Continuar la investigación, utilizando cantidades de enzima menores a la concentración mayor utilizada en este estudio. De esta forma, se conocerá el nivel mínimo a utilizar para obtener una concentración de glucosa mayor.

Cuadro 4. Parámetros seleccionados para la sacarificación de almidón de tiquisque.

Parámetro	Valor
Concentración de enzima (mL enzima/kg sustrato)	0.90
Tiempo de acción de la enzima (h)	20
Temperatura (°C)	60

Para la purificación del jarabe (45°Brix) fue necesaria una etapa centrifugación, una clarificación con carbón activado (1.5%), una filtración con celite y tratamientos de intercambio iónico para obtener el jarabe que cumplió con los parámetros requeridos: concentración de calcio de 0.95 ppm, conductividad de 16.5 $\mu\text{S/cm}$ y absorbancia a 280 nm de 0.17. El jarabe de 45°Brix presentó las siguientes características: glucosa 41.8%, azúcares reductores 44.7% y materia seca 45.0%. En la figura 5 se presenta el diagrama de elaboración que resume las etapas involucradas.

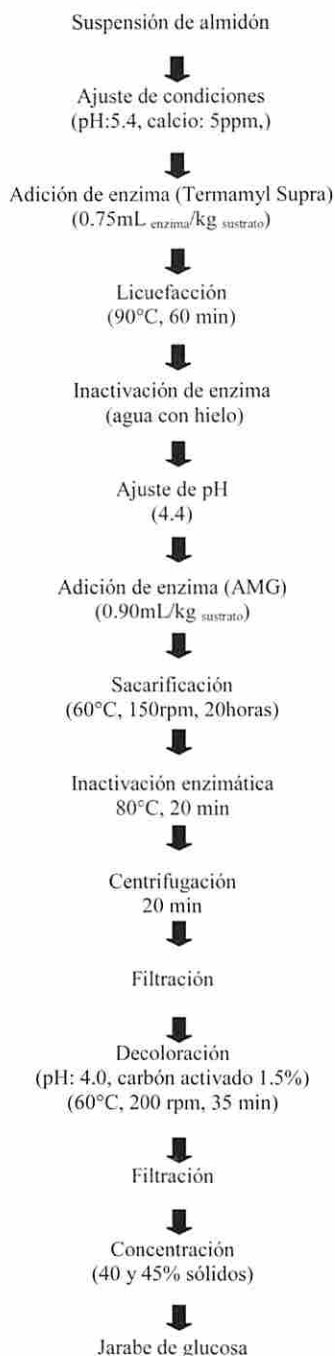


Figura 5. Diagrama de producción de jarabe de glucosa

CONCLUSIONES.

El grado de pureza de los jarabes producidos experimentalmente es cercano al 100%; es decir, no contienen otro tipo de azúcares.

El almidón de tiquisque es una buena materia prima para la producción de jarabes de glucosa, siendo esto una potencial solución para la utilización de los volúmenes de rechazo del tiquisque.

AGRADECIMIENTO

Se agradece a TRISAN, representantes de NOVO en Costa Rica, por la donación de las enzimas utilizadas en esta investigación. A la Internacional Foundation for Science (IFS) y a la Universidad de Costa Rica por el financiamiento otorgado.

BIBLIOGRAFÍA

AOAC. 1984. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. Fourteenth Edition. U.S.A.

Angold R., Beech G. y J. Taggart. 1989. *High fructose corn syrup: technology push*. Food Biotechnology. Cambridge University Press. New York.

Castro M. (2004). Volúmenes de rechazo de tiquisque para exportación y su uso. Universidad de Costa Rica, San José. Comunicación Personal

Chacón A. 1994. *Producción de fructosa via enzimática*. Tesis Ingeniería Química. Universidad de Costa Rica.

Chaves J. 1999. *Producción de fructosa utilizando la isomerasa inmovilizada Sweetzyme en un proceso continuo*. Tesis Ingeniería Química. Universidad de Costa Rica.

Crabb W. y C. Mitchinson (1997). Enzymes involved in the processing of starch to sugars. *Trends in Biotechnology* 15: 349-352

Crespo A. 2000. *Producción de jarabe de maltosa a partir de banano verde mediante hidrólisis enzimática*. Tesis Ingeniería Química. Universidad de Costa Rica.

Guzmán-Maldonado H. y O. Paredes-López 1995. *Amylolytic Enzymes and Products Derived from Starch: a review*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35(5): 373-403.

Mac Callister R. 1979. *Nutritive Sweeteners made from starch*. *Advance in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, Vol. 36, pag. 15-56

NOVOZYMES. 2002. Ficha Técnica. Termamyl Supra.

NOVOZYMES. 2002. Ficha técnica. AMG E.

Sáenz D. 1986. Obtención de jarabe de glucosa por medio de una hidrólisis enzimática a partir de banano verde. Tesis Ingeniería Química. Universidad de Costa Rica

Southgate D. 1976. *Determination of food carbohydrates*. Applied Science. London.

Van der Maarel M., Van der Veen B., Uitdehaag J., Leemhuis H. y L. Dijkhuizen. 2002. *Properties and applications of starch-converting enzymes of the alpha-amylase family*. *Journal of Biotechnology* 94: 137-155

DINÁMICA DESCRIPTIVA DEL CRECIMIENTO DE CALLOS DE *Beta vulgaris* L. CULTIVADAS *In vitro* MEDIANTE ANÁLISIS FRACTAL DE IMÁGENES

¹Sánchez Segura Lino; ²Chanona Pérez Jorge; ¹Arenas Ocampo Martha, ²Alamilla Beltrán, Liliana; ²Gutiérrez-López, Gustavo y ¹Jiménez-Aparicio Antonio

²INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
 ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
 DEPARTAMENTO DE GRADUADOS E INVESTIGACIÓN EN ALIMENTOS.

Carpio y Plan de Ayala s/n Col. Santo Tomás, México. 11340.

¹INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
 CENTRO DE DESARROLLO DE PRODUCTOS BIÓTICOS
 Apartado Postal 24. Yautepec, Morelos. México. C.P. 62731. (735)3942020. Fax: (735)3941896.

aaparici@ipn.mx
 MORELOS – MÉXICO

Palabras clave: Dimensión fractal, caos, atractor, extensión, expansión.

RESUMEN

La geometría fractal y el análisis digital de imágenes (ADI) son conceptos y herramientas de reciente adopción en la biotecnología vegetal debido a que permiten analizar la morfometría del crecimiento celular además de que es posible cuantificar la forma en que se desarrollan, evolucionan e interactúan para organizarse. El análisis fractal de agregados celulares de *Beta vulgaris* L. es un enfoque novedoso que puede ayudar a entender y describir los fenómenos complejos y los que por su naturaleza impredecible se consideran caóticos, por ejemplo el crecimiento de callos durante el cultivo celular *in vitro*. Por lo que el objetivo de este trabajo fue el describir la dinámica de crecimiento de células *in vitro* de *Beta vulgaris* L., utilizando herramientas de ADI. Se obtuvieron dinámicas de crecimiento fractal de área (D_A) y perímetro (D_P), en esta se establecieron tres etapas de crecimiento, 1) periódica u oscilatoria, 2) caótica o de crecimiento desordenado y 3) periódico; además se estableció un tiempo fractal de crecimiento.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de células de *Beta vulgaris* L. *in vitro* ha adquirido relevancia en la biotecnología debido a la producción de metabolitos secundarios de interés químico, alimentario y como modelo para la caracterización de fenómenos y procesos celulares. Estos cultivos se caracterizan por formar agregados y callosidades durante el crecimiento celular. Este concepto se ha definido como la proliferación de células, continua, acelerada y de apariencia desorganizada (Hurtado y Merino 1987).

Sin embargo, la caracterización del crecimiento vegetal *in vitro*, se ha cimentado sobre la extrapolación del crecimiento bacteriano en cultivos; sin embargo la naturaleza de las células vegetales hace que la evaluación del crecimiento celular en un cultivo se vuelva subjetivo y describa los cambios morfológicos de las células a través de parámetros geométricos euclidianos, tales como la formación de agregados "redondos, esféricos o cilíndricos" (Huang *et al.* 1993). Esta descripción se vuelve más inexacta debido a que no existe repetibilidad e interfiere el criterio subjetivo del observador. En este sentido, la geometría fractal provee de nuevas herramientas para analizar las propiedades dinámicas de las formas naturales, la manera en que se desarrollan y evolucionan, o como interactúan entre sí para competir u organizarse (Talanquer 1996). Los fractales son fundamentales en la explicación de los fenómenos complejos y el caos. Éstos se ubican dentro del límite que separa el caos del dominio de la organización y la estructura. (Chanona-Pérez. *et al.* 2001). El análisis de la dimensión fractal (ADF) aporta las mediciones utilizando la irregularidad de los objetos o la fragmentación de las formas naturales. En estos objetos este patrón de crecimiento se repite una y otra vez a diferentes escalas; es decir, observando el máximo nivel de detalle en el objeto, con el mismo "costo" en el diseño (Talanquer 1996). Jiménez (2005) midió la dimensión fractal de los agregados de

B. vulgaris L. crecidos en suspensión a través de la dimensión fractal de área - D_A y perímetro D_P . Esto le permitió establecer una relación entre la concentración de biomasa, el tamaño de los agregados y las D_P y D_A para los agregados crecidos tanto en matraces como en biorreactor.

La evolución y predictibilidad de estos fenómenos se caracterizan por tener un comportamiento que no puede ser descrito por leyes matemáticas sencillas. Esto impide predecir la evolución del sistema es lo que se define como caos (Talanquer 1996). Para describir estos fenómenos se establecen dos propiedades emergentes: La primera es que la periodicidad que puede expresarse en términos de frecuencias (Chanona-Pérez *et al.* 2001). La segunda propiedad es la sensibilidad a las condiciones iniciales (Chanona-Pérez *et al.* 2001; Braun 1996; Talanquer 1996). Además, los sistemas complejos presentan la propiedad del 'protectorado' (Cocho y Miramontes 2000), concepto que permite comprender la organización de la materia que da lugar a estructuras discernibles y funcionales. Estas estructuras se construyen a través de las diversas interacciones (bioquímicas, moleculares, con el medio ambiente etc.) y la complejidad del fenómeno estudiado. Un sistema evoluciona al transcurrir el tiempo y tiene varios destinos finales. A estos puntos se le conoce como 'atractores'. Se han descrito como a) periódicos y b) atractores caóticos o extraños.

Convencionalmente el crecimiento de agregados celulares se ha descrito mediante modelos que miden las condiciones globales del sistema y no las variaciones que a nivel de agregados individuales se puedan estar presentando. La amplia gama de estados celulares encontrados en los agregados, por ejemplo células jóvenes, en división, no-viables, en fase apoptótica e incluso muertas, hace que tales agregados se puedan considerar como sistemas asíncronos y complejos. Sin embargo, dentro de ese caos aparente, puede existir un probable patrón de crecimiento ordenado, autoorganizado estructuralmente, que indicaría que en realidad se estarían construyendo estructuras autosimilares. Por lo que este trabajo se propone describir la dinámica de crecimiento de *Beta vulgaris* L. cultivadas *in vitro* mediante herramientas y conceptos del análisis fractal de imágenes, además de establecer el tiempo fractal de crecimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico y medio de cultivo

El modelo biológico de estudio utilizado fueron células desdiferenciadas (callos) de *Beta vulgaris* L., de la variedad 'Crosby Egyptian'. Las células se cultivaron en el medio basal B₅ (Gamborg *et al.*, 1968) de la marca SIGMA (St. Louis, MO, USA), adicionado con sacarosa (Merck, 20 g/l) y de ácido 2,4-diclorofenoxiacético (9.05×10^{-2} $\mu\text{mol/L}$) y cinetina (9.05×10^{-2} $\mu\text{mol/L}$), de la marca SIGMA. Se ajustó el pH a 5.5 y posteriormente se agregó Phytigel (2 g/l). Se esterilizó en autoclave durante 20 min a una presión de 1.033 Kg/cm². Se vertió en cajas de petri desechables de 150 x 25 mm.

Lotes experimentales

Se establecieron dos lotes experimentales el primer lote correspondió a los agregados cuyas imágenes se capturaron con la cámara CCD en la que el zoom y el flash fueron inhabilitados; b) el segundo lote correspondió a los agregados cuyas imágenes se tomaron con la cámara CCD pero con la opción de autofocus habilitado. Se capturaba diariamente, una imagen de cada callo para los dos lotes; de tal forma que se aseguró tener un mínimo de 60 imágenes diarias para cada lote. Está reportado que con este número de imágenes es posible mantener el error estándar por abajo del 5% (Jiménez, *et al.* 2005).

Equipo para la captura y software para análisis de imágenes digitales

Cámara fotográfica digital de 2.1 mega píxeles de resolución (Nikon, Coolpix E900, Japón) soportada por un trípode fotográfico con iluminación de 2 focos de 100 watts de luz blanca (iluminante de 5400° K). La cámara se utilizó siempre a una distancia fija constante entre el lente y el objeto a fotografiar. A las imágenes se les dio el siguiente tratamiento: a) binarización con el software Corel Photo Paint (V11.0, Corel Corporation, USA) e Image J (V1.34s, National Institute of Health, USA, dominio público); b) la medición de los parámetros y descriptores morfológicos con Sigma Scan Pro (V5.0, SPSS, USA); c) procesamiento de datos y análisis estadísticos con Excel de la paquetería Office (V. XP, Microsoft Corporation, USA).

RESULTADOS

Fue evidente que el tamaño de los agregados de *Beta vulgaris* L. incrementó exponencialmente a medida que se transcurría el tiempo de cultivo (Figura 1). Pero se observó un mayor crecimiento durante los últimos 10 días, comportamiento no reportado y que por el contrario se ha denominado etapa estacionaria de crecimiento del cultivo (Dixon, 1988; Cosgrove, 2000; y Jiménez, 1996), más no evidencia el estado celular del cultivo. Este hecho sugiere que el incremento de los agregados pudiese darse por periodos sensiblemente más prolongados.

La tendencia de la D_A y D_P fue oscilatorio respecto al valor inicial. Es decir los agregados se hacían más irregulares y ramificados o el caso opuesto se vuelve más compacto (Figura 1). Este comportamiento puede ser resultado de los mecanismos de agregación y posterior expansión celular. En este sentido Leboeuf, *et al.*, (2003) encontraron diversos "estados de agregación" celular, producto de la dinámica de recambio e interconversión de carbohidratos estructurales de la pared celular. Por lo tanto, dado que la D_A y D_P no es la acumulación de la dimensión de días anteriores, sí puede ser el índice que permite en un momento de la dinámica de crecimiento ubicar el grado de ramificación (división celular) y crecimiento (Chakraborti *et al.* 2003).

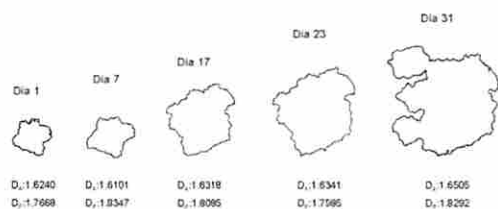


Figura 1. Contorno y Dimensión Fractal (D_A y D_P) para agregados de *Beta vulgaris* L. Los perfiles de las imágenes ejemplifican el seguimiento realizado al mismo agregado.

Evolución de la dimensión fractal de perímetro D_P

La dimensión fractal de perímetro D_P es un índice de irregularidad del contorno, en el que los agregados se encuentran primordialmente en una fase de expansión celular, por lo que además de incrementarse el área, el perfil del

contorno se modifica como producto del aumento del volumen (Jiménez, 2005).

Identificación de las etapas de periodicidad y de caos en las cinéticas de crecimiento fractal

De acuerdo a lo reportado por Chanona-Pérez, *et al.*, (2001), en las cinéticas se podrían establecer hasta tres probables etapas: a) una oscilatoria que abarcaría del día 1 al 12, b) una referente a un crecimiento desordenado del día 13 al 19 y c) un retorno a una fase oscilatoria del día 20 al día 31. Estas etapas se observan en las dinámicas de D_A y D_P (Figura 2). El comportamiento oscilatorio en el crecimiento ha sido referido por Cosgrove, (2000), quien lo atribuye a los diferentes cambios en el medio ambiente de la pared celular. Sin embargo, de acuerdo a la bibliografía disponible hasta este momento, estos cambios oscilatorios no habían sido cuantificados, particularmente aplicando el concepto de fractalidad.

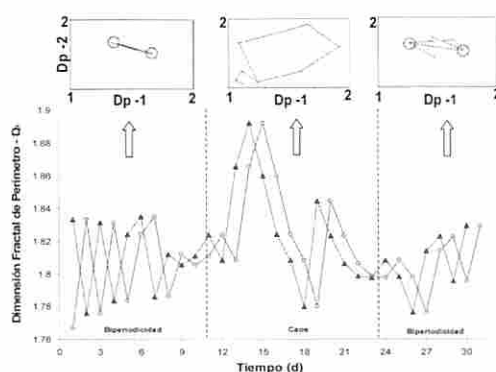


Figura 2. Regiones identificadas en la dinámica de crecimiento fractal de agregados de *Beta vulgaris* L: (A) Atractor determinista, (B) región caótica y (C) cuasi-atractor (\bullet) D_P (\blacktriangle) D_{P-1}

Por otra parte, para la cinética de D_P (Figura 2) se observó que el crecimiento de los agregados estaba caracterizado primeramente por una oscilación biperiódica bien definida (Chanona *et al.*, 2001), en donde se incrementaba el perímetro producto de una mayor sinusoidal del contorno para posteriormente decrecer por efecto de la adquisición de volumen celular que se refleja en un perímetro más liso; este comportamiento se presentó desde el inicio hasta el día 10. A continuación se observó una probable fase estacionaria puntual que se localiza al día 10 ($D_P = 1.805$), donde a partir de ese punto, el crecimiento empieza a ser caótico. Este crecimiento caótico se observó hasta el día 23 ($D_P = 1.891$) en este periodo se tuvieron los valores más distantes de sinusoidal o irregularidad perimetral ($D_P = 1.798$, perímetro sinuoso a $D_P = 1.780$, perímetro liso).

De igual manera en la Figura 2 se observa de acuerdo a lo establecido por Braun, (1996), los probables atractores del comportamiento del sistema en un espacio de fases, determinada por la relación de D_{P1} vs la D_{P2} (correspondiente al desfase) cuyas condición límite es el plano 1 y 2 (valores mínimo y máximo para la dimensión fractal). La primera fase biperiódica (Figura 2A) se presentó un atractor determinista que sólo ocupa una sección limitada del espacio de fases. El atractor evidencia que el comportamiento del sistema sea producto de la alternancia entre eventos de expansión – extensión de la pared celular lo que estaría demostrando una probable autoorganización o autorregulación del crecimiento celular. Posteriormente esta dinámica interna probablemente sea afectada por los numerosos eventos tanto metabólicos como genéticos (programados) que activan el proceso de división celular, dando como resultado una ruptura de esa aparente simetría de cambios entre rugoso y liso, el espacio de fases (Figura 2B) se ve ocupado prácticamente en la totalidad y no es posible conocer los eventos que ocurrirán, aumentando por lo tanto la complejidad del sistema, lo vuelve caótico e impredecible (no hay posibilidad de conocer en que momento el perímetro se hace más tortuoso o más liso).

Finalmente se observó un lento regreso al comportamiento oscilatorio y a la autoorganización celular (Figura 2C) en donde se presentó un *cuasi* atractor. Este comportamiento sugiere que las fases biperiódicas, caóticas y biperiódicas probablemente pudiesen ser cíclicas y que su alternancia podría extenderse de forma infinita mientras no exista uno o varios elementos que perturben e iteren el sistema. No obstante la complejidad que implica el constante cambio de formas y rupturas de simetría durante el crecimiento y duplicación de las células cultivadas *in vitro*, el protectorado de los agregados se conserva; es decir, las células bajo estas condiciones de cultivo se mantendrán como células desdiferenciadas sin que den origen a nuevas estructuras (raíz, tallo u hoja) lo que implica un nuevo protectorado autoorganizado, punto conocido como criticalidad autoorganizada (Cocho y Miramontes 2000). En el Cuadro 1 se muestra el tiempo de crecimiento celular, corregido por la Df De acuerdo a la cinética propuesta por Michaelis-Menten-Monod, el tiempo de duplicación celular (Td) está dado por:

Cuadro 1. Tiempo fractal de crecimiento corregido por D_A

Etapas (d)	μ	D _A	Td (d ⁻¹)	Tdc (d ⁻¹)
0 a 5 (pf)	0.103	1.6118	6.73	4.63
5 a 14 (pf)	0.134	1.6110	5.17	3.56
16 a 21 (pf)	0.155	1.6445	4.46	3.20
1 a 5 (ps)	.0796	1.6087	8.71	5.97
5 a 21 (ps)	0.0634	1.6235	10.93	7.64

$Td = \ln 2 / \mu$. Donde está en d⁻¹, μ la velocidad específica de crecimiento y el 2 se refiere precisamente a que el número de células se habrá duplicado en el tiempo Td. Sin embargo este modelo de crecimiento bacteriano no es de correcta aplicación en modelos vegetales de crecimiento fractal.

Dado que la D_A es un exponente corregido para la dimensión euclidiana de un área, es decir 2, y que en el sentido estricto del proceso no se está llevando a cabo en su totalidad la duplicación del área del agregado, sino que es un área inacabada de dimensión D_A, por lo que se propone introducir este valor en el cálculo del tiempo de duplicación de acuerdo a: $Tcf = \ln D_A / \mu$. Este concepto se denominó Tiempo de crecimiento fractal. Como se puede observar, los valores de Tfc son menores a los de Td, precisamente porque la dimensión del área no es 2, sino que es D_A y en función de este valor, el área es como realmente se está incrementando y no en términos de un crecimiento geométrico de 2, 4, 8, 16 etc.

CONCLUSIONES

Los agregados de *Beta vulgaris* L. en medio semisólido presentaron dimensionalidad fractal (D_F y D_A) siendo ésta una propiedad emergente de los sistemas complejos. Esta característica sugirió que el crecimiento de los agregados de *Beta vulgaris* L siguió una dinámica no lineal dada por eventos de expansión (D_F) y extensión (D_A) celulares evidenciada por los cambios de las características morfométricas de los agregados. La identificación de atractores estadísticos, sugieren una alternancia de estados morfo-fisiológicos. El cálculo del tiempo de duplicación celular fue corregido con la D_A, debido a que la población no experimentó un crecimiento dado por una progresión estrictamente geométrica, sino que ésta realmente crece en razón de la dimensión fractal.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo es parte de los Proyectos CONACYT 39562 así como SIP – IPN 20060394.

BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS

- Braun E. 1996. Caos, fractales y cosas raras. 1ª Edición. Ed. Fondo de Cultura Económica. México. pp 109.
- Chanona P. J., L. Alamilla B. y G. F. Gutiérrez L. 2001. Caos y geometrías de fractales, herramientas auxiliares para evaluar la complejidad del entorno biológico. *Bioteconología* 5: 117-125.
- Chakraborti, R. K., K. H. Gardner, J. F. Atkinson and J. E. Van Benschoten. 2003. Changes in fractal dimension during aggregation. *Water Research*. 37: 873-883.
- Cocho, G., y Miramontes, P. 2000. Patrones y procesos en la naturaleza. La importancia de los protectorados. *Ciencias*. 59:14-22.
- Cosgrove J. D. 2000. Expansive growth of plant cell walls. *Plant Physiology and Biochemistry* 38(1/2). 109-124.
- Dixon R.A. 1988. Plant cell culture. Series editors D. Rickwood and B.D Hames. Oxford, Washington D.C.
- Gamborg O. L., Miller R. A. and Ojima K. 1968. Nutrient requeriment of suspension cultures of soybean root cells. *Experimental Cell Research*. 50: 151-158.
- Hurtado M.D. y Merino M. M. E. 1987. Cultivo de tejidos vegetales. Cultivo de Callos. Cap. 7. 1ª Edición . Ed. Trillas México. pp 93-100.
- Huang, J., Erickson, L., Yih Yiin, T. and Glasgow, L. (1993). A review of the effects of shear and interfacial phenomena on cell viability. *Critical Review in Biotechnology*. 13 (4): 305-328.
- Jiménez-Aparicio, A., G. Gutiérrez-López y M. Rodríguez-Monroy. 1996. Caracterización reológica e hidrodinámica del cultivo de células de betabel (*B. vulgaris* L.) productoras de betalainas en un biorreactor tipo tanque agitado. Pp:105-112. En: Propiedades físicas de los alimentos, Tomo I (eds.) M. Hübinger, F. Murr y J. Aguilera. Universidad Politécnica de Valencia, España.
- Jiménez J. C. 2005. Aplicación de la geometría fractal a agregados celulares de *Beta vulgaris* L. crecidos en suspensión (matraces y biorreactor tipo tanque agitado). Tesis de Maestría. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos – I.P.N. Yautepec, Mor.
- Jiménez J. C., Salcedo M. G., Martínez B. B., Chanona P. J., Alamilla B. L., Arenas O. M., Gutiérrez L. G. y Jiménez A. A. 2005. Naturaleza fractal de células en suspensión de *Beta vulgaris* L., sometidas a un proceso de permeabilización. *Biótica*. 2. No.1: 39-53.
- Leboeuf E., Thoiron S. and Lahaye Marc. 2004. Physico-chemical characteristics of cell walls from *Arabidopsis thaliana* microcalli showing different adhesion strengths. *Journal of Experimental Botany*. 55, No. 405. 2087-2097.
- Talanquer V. 1996. Fractus, fracta, fractal. Fractales, de laberintos y espejos. 1ª Edición. Ed. Fondo de Cultura Económica. México. pp 83.

“USO DE LA TÉCNICA DE PCR PARA CONFIRMAR LA PRESENCIA DE UNA LEVADURA CONTAMINANTE DE VINO”

Claudio Martínez Fernández, Angélica Ganga, Angela Contreras Castro*
 Universidad de Santiago de Chile, Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos,
 Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Avanzada.
 Obispo Manuel Umaña N° 050. Santiago, Chile.

Palabras claves: *Brettanomyces/Dekkera bruxellensis*, Levaduras vínicas, PCR, microbiología clásica, secuencias nucleotídicas especie específicas. **Área Temática:** Biotecnología.

INTRODUCCIÓN

Las levaduras del género *Brettanomyces* son contaminantes frecuentes del vino y de entre éstas la especie *Brettanomyces bruxellensis* es predominante, siendo la causante de grandes pérdidas sufridas por esta industria. Dichas levaduras generan malos olores, descritos como olor a orina de caballo, olor a ratón mojado, entre otros (1). Su eliminación es compleja dado que normalmente esta presente en el ambiente viñero, siendo altamente resistente al sulfito y a altas concentraciones de etanol (2).

En Chile se ha estimado que el deterioro causado por *Brettanomyces bruxellensis*, sólo en vino embotellado, provocaría pérdidas que ascienden a US\$ 30.000.000 anuales(3). Actualmente no existe un sistema de detección microbiológico específico para *Brettanomyces bruxellensis*, puesto que las características que pudiesen identificarla fisiológicamente están presentes también en otras levaduras vínicas, lo que lleva a errores en su determinación. Por ello el uso de técnicas genético moleculares de detección surgen como una alternativa confiable, al basarse éstas en la identificación de secuencias del genoma específicas de la especie. Debido a lo antes expuesto, en esta tesis se desarrolló un método de detección confirmatoria de *Brettanomyces bruxellensis* que utiliza la técnica de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa), y que permite dar un resultado fiable, utilizando un menor tiempo de análisis que los métodos microbiológicos clásicos y a la mitad del costo de otras técnicas moleculares equivalentes.

METODOLOGÍA

Material biológico: Las cepas se obtuvieron del cepario del Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Aplicada (LAMAP-USACH) y correspondieron a: *Brettanomyces bruxellensis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Pichia anomala*, *Candida agrestis* y *Torulaspota delbruckii*. Las cepas analizadas por el método desarrollado en este estudio correspondieron a 16 cepas *Brettanomyces bruxellensis* provenientes de distintas regiones de Chile y Argentina, *Brettanomyces anomala* (USA), *Pichia scolyti* y *Metschnikowia pulcherrima* (España), *Saccharomyces bayanus*, *Torulaspota delbruckii* y *Zygosaccharomyces bailii* (Chile). Todas las cepas de levaduras aisladas fueron crecidas en caldo YPD (0.5% extracto de levadura, 0.5 % peptoná y 2% glucosa) a 28 °C, en agitación durante una noche. Las cepas de levadura provenientes de muestras de vino fueron crecidas en agar YPD con 100 ppm de ciclohexamida y 50 ppm de estreptomyciná, a 28 °C por 7-10 días.

Partidores: Los partidores evaluados fueron obtenidos de estudios anteriores (Martínez, C. comunicación personal), y fueron los siguientes: LAMAP 1 F de 20 pb y 45% GC, LAMAP 1 R de 16 pb y 56% GC, LAMAP 2 F de 16 pb y 63% GC, LAMAP 2 R de 18 pb y 50% GC, LAMAP 3 F de 16 pb y 56% GC, LAMAP 3 R de 16 pb y 63% GC, LAMAP 4 F de 16 pb y 56% GC, y LAMAP 4 R de 18 pb y 50% GC.

Control interno: Se utilizó ADN del plasmidio pBluescript SK, el cual genera una banda electroforética de 165 pb al ser amplificado por PCR con los partidores T₃ y T₇.

Pre-optimización de la reacción de PCR: Las muestras de ADN fueron extraídas utilizando el protocolo Wizard® (Promega). La mezcla de reacción fue de 50 µL, donde se incluyó: buffer 1x (KCl y Tris-HCl) y enzima *Pfu* polimerasa (0.2 ng/µL). Además, se utilizaron concentraciones de ADN

(2-0.8 ng/µL), desoxinucleótidos trifosfato (0.1-0.4 mM), cloruro de magnesio (1.5-3.0 mM) y un par de partidores seleccionados en la etapa anterior (0.2-0.5 µM), concentraciones que fueron variadas en los rangos descritos en paréntesis. Por otra parte, se evaluaron las temperaturas de hibridación de 45-53°C. El método estadístico utilizado para determinar los factores relevantes fue un diseño factorial 2⁵, el cual arrojó 32 experimentos más dos puntos medios. El programa de PCR utilizado consistió en un ciclo de desnaturalización inicial a una temperatura de 95°C, durante 10 minutos. Además incluyó 40 ciclos consistentes en tres etapas, una primera etapa de desnaturalización a 95°C por un minuto, una segunda etapa de hibridación a 45 °C, 49°C ó 53°C, y una etapa de elongación a 72°C, durante un minuto. Finalmente, se incluyó una etapa de 7 minutos a 72°C. Los productos de la reacción de PCR fueron analizados a través de electroforesis en gel de agarosa al 1.4%, teñidos con bromuro de etidio y visualizados en un transiluminador UV (*Vilberlourmat*)

Optimización de la reacción de PCR: Los factores determinados como relevantes fueron ensayados utilizando el método estadístico Superficie de Respuesta (Compuesto central en tres bloques) (4) utilizando los valores óptimos de los factores restantes, siguiendo el mismo proceso descrito en el punto anterior. Para ello, los amplificadores de PCR fueron evaluados bajo un criterio cualitativo (número de bandas amplificadas) y un criterio cuantitativo (cantidad del segmento amplificado de interés).

Análisis de muestras de vino y cepas de levaduras de interés: 100 mL de vino fueron filtradas en membranas de 0.45 µM, las células retenidas fueron colocadas en placas YPD con ciclohexamida y estreptomyciná. Luego de 7 días, algunas de las colonias obtenidas fueron sembradas en caldo YPD, para ser analizadas por el método PCR desarrollado en este estudio, y también fueron sembradas en agar YPD con CaCO₂ donde se dejaron crecer 10-15 días a 25°C, para ser analizadas por el método microbiológico actualmente en uso.

RESULTADOS

Elección de partidores: Los partidores fueron ensayados, siendo sometidos a reacciones de PCR donde se varió la temperatura de hibridación. De las temperaturas utilizadas, 53°C presentó resultados sobresalientes, obteniéndose una banda nítida para *B. bruxellensis*, banda que se encuentra ausente en las restantes levaduras en análisis, obteniendo así la mejor evaluación tanto cualitativa como cuantitativamente, para el partidor LAMAP 1.

Concentración óptima de ADN plasmidial: Se determinó una concentración mínima de ADN plasmidial de 0.01 ng/µL, con la cual se aseguró que éste no interviniese en la amplificación del ADN de la levadura en estudio y al mismo tiempo se verificara el correcto funcionamiento de la reacción de PCR.

Pre-optimización de los factores de influencia: Los resultados obtenidos del análisis estadístico para las variables de respuesta, Evaluación (cualitativa) y Cantidad de producto PCR (cuantitativa), determinaron que los factores concentración de cloruro de magnesio y concentración de desoxinucleótidos trifosfato, así como la interacción entre ambos, afecta significativamente a la variable Evaluación de la reacción de PCR, y de la misma forma se ve afectada la variable Cantidad de producto PCR obtenido. Con un ajuste de los datos de 72% y 69%, respectivamente.

Optimización de variables significativas: Considerando solamente los factores concentración de desoxinucleótidos trifosfato y cloruro de magnesio se realizó un análisis de optimización utilizando el método Superficie de Respuesta, Compuesto Central en 3 bloques. Para ello, se amplió el rango para cada concentración utilizando valores entre 0.1 a 0.8 mM y 1.0 a 2.0 mM, para la concentración de desoxinucleótidos trifosfato y cloruro de magnesio, respectivamente. Con el fin de determinar con mayor certeza los valores óptimos de cada factor, los óptimos de los otros factores permanecieron sin variación. El análisis estadístico determinó que la concentración óptima de desoxinucleótidos trifosfato y cloruro de magnesio correspondían a 0.8 mM y 1.9 mM, respectivamente, para las condiciones ensayadas. Finalmente, los valores óptimos de los factores restantes fueron los siguientes: 0.4 ng/μL de ADN y 0.2 μM de cada partidor (FyR). El análisis de los resultados y el programa utilizado fueron los mismos descritos anteriormente, con una temperatura de hibridación de 45°C.

Evaluación de muestras reales: Seleccionados los partidores adecuados y optimizada la reacción de PCR, se construyó un protocolo de análisis con el cual se inició el proceso de evaluación del método planteado, por lo que se analizaron un total de 22 aislados, 12 levaduras extraídas de muestras de vino provenientes de diversas viñas, y 10 provenientes del cepario de LAMAP (Figura 1). Se puede observar en la figura que todas las muestras de vino que presentaron contaminación por *B. bruxellensis* muestran una banda de 450 pb, en cambio no se observa esta banda en *B. anomala*, lo que determina la capacidad de determinación especie-específica del método desarrollado.



Figura 1: Electroforesis en gel de agarosa de productos PCR para distintas muestras

Donde se evaluó la presencia de *Brettanomyces bruxellensis*. Los carriles 1 y 12 corresponden al patrón de tamaño molecular del fago λ digerido con *HindIII* y *EcoRI*, utilizado para cuantificación del producto PCR obtenido. Los carriles 2 y 13 corresponden al marcador de tamaño molecular de 100 pb, utilizado para determinar el tamaño del amplificado obtenido. Los carriles del 3 al 11 son reacciones de PCR (exceptuando el carril 8) y corresponden a muestras de vino, en tanto que el carril 8 corresponde a una cepa de la especie *Brettanomyces anomala*, obtenida desde el cepario del LAMAP.

Otra muestra de la especificidad del método desarrollado se observa en la Figura 2, donde las levaduras no *Brettanomyces*, presentes en vino, no presentan banda, salvo la banda de 165 pb producida por el control interno que confirma la ausencia de inhibidores en la reacción. La cepa *Brettanomyces bruxellensis*, en cambio, presenta además una banda de 450 pb que la hace diferenciable de las otras levaduras analizadas.

La robustez del método desarrollado fue comparada con el método microbiológico clásico y un método recientemente desarrollado por laboratorios Roche y la USACH para PCR en tiempo real. Los resultados obtenidos sugieren que el método desarrollado en este trabajo tiene una sensibilidad equivalente al método molecular y superior al método microbiológico, el cual no detectó muestras contaminadas con *B. bruxellensis*.

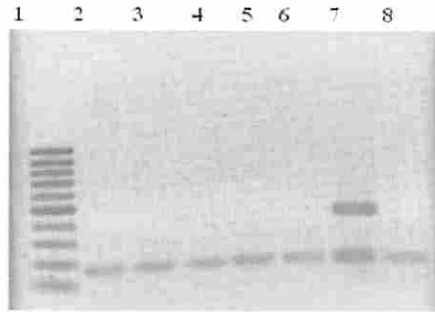


Figura 2: Electroforesis en gel de agarosa de productos PCR para distintas levaduras, donde se evaluó la especificidad para *Brettanomyces bruxellensis*. El carril 1 corresponde al marcador de tamaño molecular de 100 pb, a la izquierda de la figura se indican los tamaños de banda en pares de bases (pb). Los carriles del 2 al 7 corresponden a las levaduras: *Pichia scolyti* (2), *Metschnikowia pulcherrima* (3), *Saccharomyces bayanus* (4), *Torulaspora delbruckii* (5) y *Zygosaccharomyces bailli* (6), *Brettanomyces bruxellensis* (7). El carril 8 corresponde al blanco.

DISCUSIONES

De los partidores ensayados, el que presentó mayor especificidad fue el partidor LAMAP 1, puesto que se observó la presencia de una sola banda de un tamaño molecular de 450 pb ausente en las otras levaduras vínicas ensayadas. Dichas levaduras están presentes normalmente en mosto por lo cual es relevante esta alta especificidad para un análisis efectivo de detección de *B. bruxellensis* en muestras de vino. En este sentido, también es destacable que el amplificado corresponda a una sola banda, lo que permite mayor simpleza en el análisis. Al evaluar muestras de vino, se determinó que en doce de éstas existía la presencia de *B. bruxellensis*, tanto por el método microbiológico como por el método PCR en estudio. En dos muestras el método PCR en estudio determinó que existía la presencia de *B. bruxellensis*, pero el método microbiológico determinó que ésta estaba ausente. Al ser analizadas por un método alternativo, PCR Tiempo-real (en proceso de validación por la Norma ISO 16140), éste ratificó el resultado de la presencia de *B. bruxellensis*, lo cual demostró la eficiencia del método desarrollado en este estudio por sobre el método microbiológico clásico. Por otra parte, la cepa de *Brettanomyces anomala*, fue analizada por el método microbiológico clásico y por el método PCR en estudio, dando un resultado positivo por el primer método mencionado, en cuanto al método PCR determinó que no existía presencia de *B. bruxellensis*, lo que confirmó la alta especificidad del método en estudio, que a pesar de la similitud que poseen ambas especies, logró detectar la presencia de la especie *Brettanomyces bruxellensis* para la cual el método fue diseñado.

Finalmente, con el método optimizado se analizaron cinco cepas puras, no *Brettanomyces*, comúnmente presentes en vinos y que poseen características fisiológicas similares a *B. bruxellensis*. Estas cepas frecuentemente generan falsos positivos al ser analizadas por métodos microbiológicos convencionales. El método PCR desarrollado en este estudio dio como resultado la ausencia de *Brettanomyces bruxellensis*, comprobándose una vez más la especificidad de este método.

En cuanto al tiempo que requirió cada análisis, se comprobó que, una vez aisladas las colonias de levaduras, el método microbiológico clásico demoró de 10-15 días en arrojar resultados, en cambio el método PCR desarrollado demoró sólo 2 días, por lo que se redujeron considerablemente los tiempos de entrega de resultados.

En cuanto a los costos requeridos por cada método utilizado en este estudio es posible afirmar que el método microbiológico convencional resulta ser barato, pero posee un alto grado de error. El método PCR en tiempo real, requiere de un equipo sofisticado, por lo que el análisis tiene un costo elevado. El método PCR desarrollado en este trabajo requiere de un equipo PCR convencional que equivale a un quinto del valor del equipo necesitado para PCR en tiempo real y además no requiere de elementos sofisticados para la realización de la reacción.

CONCLUSIONES

El partidor LAMAP 1 presentó el mayor grado de especificidad para *Brettanomyces/Dekkera bruxellensis* al ser evaluado con distintas levaduras presentes en vino.

Las variables de mayor relevancia en la reacción de PCR resultaron ser las concentraciones de desoxinucleótidos trifosfato y cloruro de magnesio, siendo óptimos 0.8 mM y 1.9 mM, respectivamente.

La técnica molecular de PCR convencional basada en la presencia o ausencia de bandas de un determinado tamaño molecular, demostró ser una herramienta eficaz para la detección de *Brettanomyces bruxellensis*, dado que se observa una sola banda, que no se encuentra en las otras levaduras presentes en vino ensayadas, y tampoco en aquellas con características bioquímicas similares a la de *B. bruxellensis*, inclusive si pertenecen al mismo género.

El método obtenido de este estudio, el cual utiliza la técnica de PCR convencional, es una alternativa asequible y confiable, debido a que se puede confirmar la presencia de *B. bruxellensis* eficazmente y a un bajo costo.

REFERENCIAS CITADAS

1. Ibeas, J. (1996). "Detection of *Dekkera-Brettanomyces* Strains in Sherry by a Nested PCR Method". *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 62, N° 3. P: 998-1003.
2. Cocolin, L. (2003). "Molecular Detection and Identification of *Brettanomyces/Dekkera bruxellensis* and *Brettanomyces/Dekkera anomalus* in Spoiled Wines". *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 70, N° 3. P: 1347-1355.
3. Silva, P. (2004). "Studies on the Wine Spoilage Capacity of *Brettanomyces/Dekkera spp*". *American Society for Enology and Viticulture*. Vol. 55, N°1. P: 65-72.
4. Saavedra, D. (2005). "*Brettanomyces*, un Contaminante en Nuestras Viñas". *Ciencia y Trabajo*. Año 7, N° 17. P: 93-96.
5. Montgomery, D. (1999). "Diseño y análisis de experimentos". Grupo Editorial Iberoamérica S.A. México. P: 241-338.

EVALUACIÓN COMPARATIVA DE DOS TIPOS DE MISO, ELABORADOS CON SOYA (*Glicine max L.*) Y CON CHOCHO (*Lupinus mutabilis*) DULCE Y DESAMARGADO.

Ortega, Eduar y Ramírez, Cristina.

ESCUELA DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS, UNIVERSIDAD DEL VALLE.

e-mail: eduarhortegad@gmail.com; crisrami123@gmail.com

Santiago de Cali. Colombia. 2007.

Palabras claves: *Lupinus mutabilis*, Chocho, Lupino, Tarwi, miso, productos fermentados.

RESUMEN

La técnica de elaboración del miso, un producto tradicional oriental elaborado por fermentación sólida, se ha utilizado con el fin de evaluar la aptitud fermentativa del chocho (*Lupinus mutabilis*), para la fabricación de productos fermentados por diferentes tipos de microorganismos. La fermentación se realizó con bacterias ácido lácticas, hongos filamentosos y levaduras. En la fermentación se realizó una comparación entre el miso tradicional elaborado con soya y un miso elaborado con Chocho procesado de dos formas diferentes, uno natural o amargo y otro dulce o sometido a desamargado. La eficiencia fermentativa se midió con la determinación de azúcares totales, azúcares reductores y análisis microbiológicos. Se observó restricciones en la fermentación bacteriana para el chocho amargo y ninguna inhibición en la fermentación con levaduras. Las fermentaciones se efectuaron similarmente para todos los experimentos. Se concluyó sobre la buena calidad del producto obtenido a base de chocho dulce. Este conocimiento hace una contribución en el futuro aprovechamiento de este material.

INTRODUCCIÓN

En los andes existe una gran cantidad de biodiversidad inexplorada, cuyo conocimiento sería de vital importancia en la prospectiva de su futuro aprovechamiento. Una de esas especies es el *Lupinus mutabilis* o como se conoce vulgarmente en las diferentes regiones de los andes, Chocho, Lupino o Tarwi. (Jacobsen 2006) Esta planta leguminosa herbácea erecta que alcanza una altura de 0.8-2.0 m y se cultiva principalmente entre los 2.000 y 3.800 m de altitud, en climas templados y fríos, tiene relevancia en la gastronomía de estas regiones desde la época prehispánica. Su alto contenido proteico que oscila en 48 %, lo hacen una planta de interés para la nutrición humana y animal. (Wikipedia 2007)

Este vegetal ha dado lugar a infinidad de preparaciones gastronómicas. (Jacobsen 2006) En tiempos prehispánicos era parte importante de la dieta, proveyendo de abundante proteína a la población. En fresco, su uso está en diversas preparaciones dentro de las que se relacionan guisos, purés, salsas, sopas, postres, etc. Sin embargo su uso y por ende su desarrollo ha sido limitado por la presencia de alcaloides como la esparteína, lupinina y lupanidina, cuya presencia genera un fuerte sabor amargo en el alimento además de poseer efectos tóxicos que pueden causar latrismo. Esta última propiedad se ha empleado tradicionalmente en técnicas populares de control de ectoparásitos y parásitos intestinales de los animales.

Los alcaloides se encuentran distribuidos en toda la estructura del grano, lo que conlleva a que actualmente el uso de este vegetal para las distintas preparaciones alimenticias se condicione a la eliminación de las sustancia amargas, (Jacobsen 2006) mediante el lavado y remojo acuoso continuado, proceso que hace palatable el alimento después de su preparación.

Un producto alimenticio ampliamente conocido así como de reconocidas propiedades nutracéuticas (Yamabe 2005) dado su origen fermentativo es el Miso, producto elaborado con soya y obtenido a través de subsecuentes procesos de fermentación sólida con hongos, bacterias y Levaduras. (Chiou 1999). Este producto originario de los países orientales, tiene un tiempo de fermentación mínimo de seis meses en el cual se van desarrollando las propiedades de sabor, textura, aroma y color, además de propiedades fisicoquímicas como el pH. En el caso

particular de la soya la fermentación ayuda a la eliminación de sabores y olores nocivos característicos, ayudando al mejoramiento de la palatabilidad de los alimentos fabricados con el grano.

Con los antecedentes del producto tradicional el cual se elabora con diversas especies microbianas, (Takumi 2006) se pretendió realizar miso con la utilización de las semillas del chocho utilizando hongos (*Aspergillus oryzae*), bacterias (*Lactobacillus plantarum*) y Levaduras (*Sacharomyces roxii* y *Candida versatilis*), con el fin de determinar las condiciones fermentativas, las características organolépticas y el grado de impacto de la fermentación sobre las propiedades toxicológicas del grano. Este estudio comparativo preliminar se hace por la similitud de las materias primas en cuanto a la composición química bromatológica, lo cual nos llevaría eventualmente a concluir el grado de aptitud del grano para procedimientos industriales altamente especializados como la fermentación.

Un aspecto de gran relevancia en el presente trabajo es que los granos al ser poseedores de estas sustancias que tienen una tradición antimicrobiana, (Jacobsen 2006) (Payo 2001), verían afectada su posible utilización para la fabricación de alimentos fermentados y su aprovechamiento de diversas formas en la alimentación; por esta razón se ha pretendido probar estos granos en la fabricación de un alimento fermentado para determinar cómo se lleva a cabo la fermentación en esta materia prima con y sin la presencia de los alcaloides y compararlas con un producto ya estudiado, lo que permita obtener una visión global de las aptitudes fermentativas de la materia prima.

MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES

Para la elaboración del Miso

Semillas de soya y chocho comerciales.

Arroz blanco tradicional

Sal (cloruro de sodio)

Formulaciones similares se recomiendan por diversas referencias, (Soya 2007) sin embargo se toma una formula promedio experimental.

Cultivos microbianos

Cepa 1. Esporas del hongo *Aspergillus oryzae* ATCC 22666 cultivados en agar PDA.

Cepa 2. Cultivo de bacterias *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 activados en caldo MRS

Cepa 3. Cultivo de levaduras *Sacharomyces roxii*, ATCC 13356. Sembradas en tubo inclinado agar PDA y activadas en caldo extracto de malta.

Cepa 4. Cultivo de levaduras *Candida versatilis*, ATCC 42980 sembradas en tubo inclinado agar PDA y activadas en caldo extracto de malta.

MÉTODOS

Experimentos

Se realizaron tres experimentos de elaboración del miso:

E1= arroz koyi 40 % mas soya 60 %.

E2= arroz koyi 40 % mas chocho dulce 60 %.

E3= arroz koyi 40 % mas chocho natural 60 %.

El proceso de elaboración del miso se realiza en tres etapas subsecuentes:

1ª Etapa: fermentación con hongos: proteólisis.

2ª Etapa: fermentación bacteriana: producción de ácido láctico (Onda 2003), adecuación del pH.

3ª Etapa: fermentación levaduras: propiedades organolépticas.

Procedimiento de elaboración del Miso.

El procedimiento de elaboración del miso que se siguió es similar a los procedimientos tradicionales. Los tres experimentos se realizaron bajo las mismas condiciones.

Preparación del koyu

Es la preparación de arroz cocinado con agua en proporción 1:2. Finalizada la cocción este se enfrió a 30 °C y se inoculó con esporas de *Aspergillus* disueltas en agua peptonada. El inóculo se distribuyó adecuadamente por todo el arroz y luego se sometió a fermentación a 30 °C, con el 90 % de humedad relativa. Este proceso finaliza cuando se ha formado una única masa integrada por el arroz y los filamentos del hongo, aproximadamente 48 horas.

Adecuación de los granos.

Las materias primas se adquirieron en los mercados locales en seco. Posterior al pesado y lavado inicial, en el caso de la soya se sometió a hidratación en agua al clima durante un período de 12 horas. Posteriormente el grano se descascaró. El mismo procedimiento anterior se realizó con los granos de chocho naturales en virtud de que el experimento se realizó en las condiciones normales del grano.

Para el chocho desamargado, los granos se remojaron continuamente por 120 horas, con intervalo de 24 horas para cambio de agua; proceso que se repitió hasta hacerlo completamente imperceptible. Posterior a esto se procedió con el descascarado.

Una vez adecuadas las materias primas, se procedió al escaldado para el ablandamiento de tejidos, el cual se realizó por 20 minutos a 120 °C y 15 PSI.

Preparación del Miso

Los granos adecuados se molieron para formar una pasta delgada y homogénea. En este proceso los granos son acompañados por el 40 % de Koyi y un 15 % en base total de sal. Esta masa se mezcla perfectamente con el inóculo del 10 % de cultivo de *Lactobacillus plantarum*. Posteriormente esta mezcla se guarda en recipientes bajo anaerobiosis. La fermentación se lleva a cabo con amasado periódico cada 48 horas, hasta que el pH de la mezcla alcanzó un valor de 4.5. Cuando la masa alcanzó este valor de pH, se le adicionó los dos cultivos de levaduras y se mezcló. La masa se continuó agitando cada dos días durante el tiempo en que se determinó que las poblaciones de tanto hongos como bacterias han sido disminuidas.

A la terminación del proceso fermentativo el producto se sometió a deshidratación y se fabricó en forma de pasta, compacta semihúmeda. La fermentación tuvo una duración total de dos meses.

Análisis realizados

Para bacterias se realizó conteo en placas en agar MRS, en agar PDA para hongos y agar Extracto de Malta para levaduras.

Los análisis químicos que se realizaron correspondieron a la determinación de la variación del pH (Potenciometría), humedad (gravimetría), azúcares reductores y totales (Felling). Los análisis se hicieron a la muestra inicial, a la muestra previa a la inoculación de las levaduras y al final del procedimiento.

Permanentemente se monitoreó las variaciones en el pH con lo que se determinó la cinética de la variación química del procedimiento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Producto obtenido.

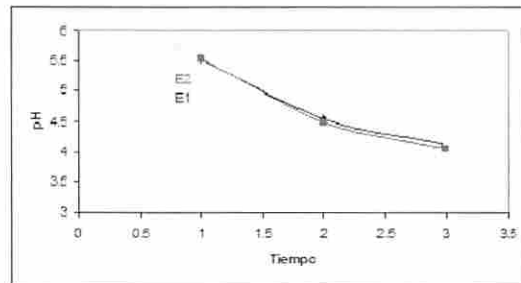
El producto resultante fue de características organolépticas muy similares entre los experimentos, en cuanto a textura y olor. En cuanto al color se observó un color oscuro mas intenso consecuencia de las reacciones de Maillard (Masashi 2005) en el miso de soya, y variaciones muy leves en los experimentos con chocho. De la característica del sabor se puede anotar que los experimentos E1 y E2 tuvieron variaciones debidas a la naturaleza diferente de su origen y estructura química, lo cual permite la obtención de productos de sabores diferentes pero agradables que poseen las características esenciales del miso tradicional. En cuanto al miso natural, experimento E3, el contenido de alcaloides del grano no sufrieron variación aparente, por ende el sabor amargo en el miso persistió haciéndolo no apto para el consumo. Este resultado revela la incapacidad de los procesos

fermentativos para eliminar este tipo de sustancias, así como la imposibilidad de utilizar este material vegetal para consumo humano o animal, sin previo proceso de desamargado.

Variación del pH en el tiempo

El pH inicial de la mezcla entre koyi y granos osciló entre 5.6 y 5.2. Estos valores experimentaron una disminución gradual en las fermentaciones de la segunda y tercera fase. La variación en este valor refleja la fuerte actividad microbiana de las bacterias ácido lácticas. De acuerdo a lo observado en la figura 1. el comportamiento de las fermentación, revela una mayor disminución en el pH en la segunda fase, en razón de la producción de ácido láctico. El pH continúa disminuyendo en la tercera fase de fermentación hasta cuando las bacterias producen ácido y son inhibidas por las levaduras, periodo de finalización en el que el pH finalizó entre 4.0 y 4.3. Este comportamiento se observó claramente en los experimentos E1 y E2.

Fig 1. Variación en el pH de los productos en cada etapa de fermentación

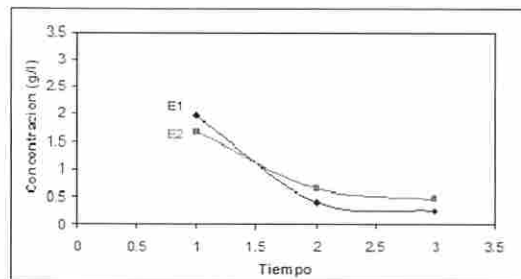


El experimento con chocho natural reportó una diferencia en la segunda etapa de fermentación. El pH no disminuyó inicialmente. Posteriormente después de una segunda inoculación de bacterias, el pH disminuyó lentamente hasta el nivel requerido para la tercera fase. Este comportamiento especial se atribuyó a la dificultad para el crecimiento de las bacterias en el sustrato.

Variación en los azúcares reductores y totales.

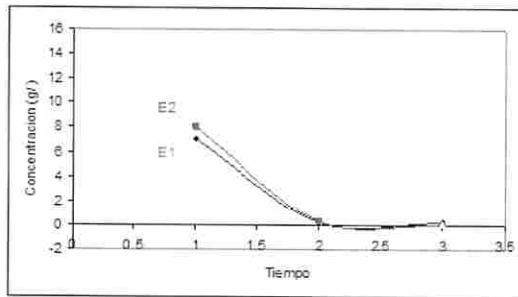
En las figuras 1 y 2 se observó que el contenido de azúcares de las mezclas experimentó disminuciones en los experimentos E1 y E2, en los que hubo un descenso en el contenido de azúcares reductores y totales en la segunda fase de fermentación. Es evidente que estas sustancias fueron las encargadas de facilitar el crecimiento de las bacterias y por ende sostener la producción de ácido en el medio. Sin embargo esta tendencia de fermentación no se extendió al experimento E3 en el cual hubo un menor consumo de estos sustratos. Esta segunda señal de inhibición de las bacterias conlleva a teorizar sobre la disminución en el crecimiento bacteriano causada; muy probablemente por los alcaloides presentes en el chocho natural.

Fig. 2. Variación en el contenido de azúcares reductores.



En la tercera etapa los experimentos E1, E2 y E3 mostraron una tendencia similar en la fermentación, en la cual se consumieron los azúcares remanentes. En los experimentos E1 y E2 la fermentación que se caracteriza por la producción de gas, se observó lenta y de un transcurso similar tanto en el chocho dulce como en la soya; sin embargo en el experimento E3 se suscitó una fermentación enérgica de producción de gas. Esta reacción se atribuye principalmente a la mayor disponibilidad de azúcares en el sustrato que no fueron consumidos en la fermentación anterior, que permitió un mayor desarrollo de las levaduras.

Fig. 3. Variación en el contenido de azúcares totales



La reacción llevada a cabo por las levaduras en el experimento E3 evidenció que el efecto de la inhibición se observó solo con la fermentación bacteriana; la fermentación con levaduras no presentó obstáculos aparentes que detuvieran el proceso.

Humedad.

Esta característica se presentó invariable en el transcurso de las fermentaciones. Las variaciones en esta propiedad solo se realizaron intencionalmente para la finalización en la elaboración del miso, bajando la humedad del producto desde un promedio de 60 % de humedad hasta un 20 %, humedad adecuada para la formación de una pasta.

Tabla 1. Consumo de azúcares en la elaboración del miso.

Tiempo	FECHA	AZÚCARES REDUCTORES			AZÚCARES TOTALES		
		g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l
1	Abr-05	1,961	1,672	3,015	7,1221	8,0381	15,061
2	Abr-28	0,384	0,646	1,998	0,2519	0,3282	7,1221
3	Jun-05	0,230	0,450	1,730	0,246	0,0172	0,0746

Análisis microbiológicos

La presencia de bacterias en el producto en el transcurso de la elaboración del producto se observa en la tabla 2. Aquí se hace el conteo de las poblaciones bacterianas acordes a los datos observados en los análisis químicos.

Los datos de la tabla 2 permiten observar que la población microbiana de E1 y E2 tienen densidades similares, mientras que las poblaciones de E3 son ampliamente inferiores a las dos anteriores. Esto evidencia que existe en el medio un fenómeno de inhibición que impidió el normal desarrollo de la fermentación.

En cuanto a las levaduras se utilizó un inóculo con una población inicial 680.000 células, del cual se inóculo aproximadamente 10 ml por kg de sustrato de cada levadura. Los conteos realizados al final de la fermentación fueron: Soya: 2.68×10^6 UFC / ml, Chocho dulce: 2.57×10^{10} UFC / ml, Chocho natural: 3.89×10^3 UFC / ml. Estos resultados revelaron la mayor cantidad de levaduras en el experimento E3 confirmando las observaciones realizadas en sentido de mayor fuerza en la fermentación y en la mayor cantidad de nutrientes para sostener mayor cantidad de organismos.

Tabla 2. Población de *L. plantarum* al inicio de cada etapa de fermentación y al final

		Soya	Chocho Dulce	Chocho Natural
Población UFC / g ¹	Inicial	6×10^{10}	6×10^{10}	6×10^{10}
Población UFC / g ²	Media	5.35×10^7	6.71×10^7	1.5×10^7
Población UFC / g ³	Final	1.1×10^4	1.9×10^4	0×10^4

1. Población bacteriana al inicio de la segunda fase de fermentación
2. Población medida 23 días después, inicio tercera fase.
3. Población final medida 38 días después de iniciar la tercera fase.

CONCLUSIONES

La capacidad fermentativa del chocho desamargado es similar a la de la soya, para cualquier tipo de organismo.

Las sustancias inhibidoras presentes en el medio con chocho natural causan una inhibición sobre el crecimiento de bacterias ácido lácticas dificultando su crecimiento y su proceso fermentativo.

Los inhibidores presentes en el medio del experimento con chocho natural no presentan inhibición sobre levaduras.

El mejor crecimiento de las levaduras en el chocho amargo podría deberse a la mayor disponibilidad de azúcares no aprovechados por las bacterias.

La fermentación de ningún organismo no elimina los alcaloides, por tanto el sabor amargo en el producto final permaneció constante.

El sabor del producto obtenido en el experimento E2 es agradable y da una variedad diferente de miso, siendo posible el desarrollo de productos con esta materia prima desamargada.

REFERENCIAS

- (1) Chiou R.Y.-Y., S. Ferng, L.R. Beuchat, 1999. Fermentation of low-salt miso as affected by supplementation with ethanol. *Department of Food Science, National Chiayi Institute of Technology, Chiayi, Taiwan, ROC. Center for Food Safety and Quality Enhancement, University of Georgia. Griffin, GA 30223-1797, USA.*
- (2) Jacobsen Sven-E. y Angel Mujica, 2006. El tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet.) y sus parientes silvestres. Universidad Real de Agricultura y Veterinaria, Taastrup, Dinamarca. email: seja@kv1.dk. Universidad Nacional del Altiplano, Puno, Perú. email: amhmujica@yahoo.com..
- (3) Masashi Ogasawara, Yuki Yamada, Makoto Egi, 2005. Taste enhancer from the long-term ripening of miso (soybean paste). Food Creation Center, Kyowa HAKKO Food Specialties Co., Ltd., 4041 Ami, Ami-machi, Inashiki-gun, Ibaraki Prefecture 300-0398, Japan..
- (4) Onda T., F. Yanagida, M. Tsuji, T. Shinohara yK. Yokotsuka, 2003. Time series analysis of aerobic bacterial flora during Miso fermentation. Food/Brewing Section, Yamanashi Industrial Technology Centre, Yamanashi, Japan, and The Institute of Enology and Viticulture, Yamanashi University, Yamanashi, Japan.
- (5) Payo Hill Armando, Sandoval López Daisy, Vélez Castre Hermán y Oquendo Suárez Marledis, 2001. Alcaloides en la especie cubana *Croton micradenus* Urb. Instituto de Ecología y Sistemática Rev Cubana Farm v.35 n.1 Ciudad de la Habana.
- (6) Soya information about soy and soya products. 2007. How to make miso. Documento disponible en <http://www.soya.be/make-miso.php>
- (7) Takumi Onda, Fujitoshi Yanagida, Masao Tsuji, Takashi Shinohara, Koki Yokotsuka, 2002. Production and purification of a bacteriocin peptide produced by *Lactococcus* sp. strain GM005, isolated from Miso-paste. Food/Brewing Section, The Yamanashi Industrial Technology Center, 2094, Otsu-cho, Kofu, Yamanashi 400-0005, Japan. The Institute of Enology and Viticulture, Yamanashi University, 1-13-1, Kitashin, Kofu, Yamanashi 400-0005, Japan.
- (8) Wikipedia, la enciclopedia libre 2007. *Lupinus mutabilis*. Documento disponible en http://es.wikipedia.org/wiki/Lupinus_mutabilis.
- (9) Yamabe Shigeo, Kazuo Kobayashi-Hattori, Kentare Kaneko, Hiroshi Endo, Toshichika Takita, 2005. Effect of soybean varieties on the content and composition of isoflavone in rice-koji miso. Tokyo Dietitian Academy, 2-23-11 Ikejiri, Setagaya-ku, Tokyo 154-8544, Japan. Department of Nutritional Sciences, Faculty of Applied Bioscience, Tokyo University of Agriculture, 1-1-1 Sakuragaoka, Setagaya-ku, Tokyo 156-8502, Japan. Department of Food Science and Technology, School of Applied Life Science, Nippon Veterinary and Animal Science University, 1-7-1 Kyonan-cho, Musashino-City, Tokyo 180-8602, Japan. Fukushima Technology Centre Aizuwakamatsu Technical Support Centre, 88-1 Shimoyanagihara, Tsuruga, Ikki-machi, Aizuwakamatsu-City, Fukushima 965-0006, Japan.

AISLAMIENTO DE ENZIMA α -AMILASA OBTENIDA DE *Bacillus subtilis* ATCC 21556 PARA APLICACIONES EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS

Prieto, Lena; Grevechova, Renata; Figueroa, Luz Mary; Rozo, Camilo
 UNIVERSIDAD DE LA SALLE
 FACULTAD DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS
 Carrera 5 # 59 A 44. E. mail. lprieto@lasalle.edu.co
 BOGOTÁ - COLOMBIA

Palabras claves: biotecnología de alimentos, enzima α -amilasa, *Bacillus subtilis*

RESUMEN

El bioproceso para el aislamiento de la enzima α -amilasa a partir del *B. subtilis* ATCC 21556 comprende una fermentación sumergida, como operación principal, donde se presentó un rendimiento de 0,73 g de enzima/1 g de biomasa producida, con un consumo de 71,43 g de sustrato y de 385 g de oxígeno, para 3L de medio líquido que se fermentaron en un biorreactor New Brunswick BioFlo 110. La enzima producida se aisló tratando el medio fermentado con las operaciones de: clarificación, purificación, concentración y liofilización; con varias centrifugaciones y filtraciones incluidas en las operaciones mencionadas. Además, se aplicó balances de materia y de energía tanto para el crecimiento bacteriano durante la fermentación como para las 16 operaciones que componen el bioproceso; de los cuales se determinó las cantidades de materiales que entran y salen en cada equipo empleado, y las energías térmica (1395,2 kJ) y eléctrica (310,22 kWh) involucradas para la producción de la enzima α -amilasa.

INTRODUCCION

Un bioproceso o proceso bioquímico se puede descomponer en etapas, así: preparación de materias primas, esterilización del equipo, esterilización del medio de fermentación, esterilización del aire, biosíntesis, separación y purificación de los productos de la fermentación y tratamiento de los residuos sólidos del proceso; y para su conocimiento es importante establecer en el bioproceso las velocidades de consumo de sustrato y de formación de producto, los cuales dependen del microorganismo específico y de las variables de fermentación que favorecen el crecimiento.

Estas velocidades generalmente son evaluadas a partir de datos experimentales o mediante analogías de procesos similares. Por otra parte, el rendimiento de sustrato en producto es afectado por el carácter frágil de las biomoléculas susceptibles de degradarse en las etapas de separación y purificación; por eso, los contaminantes presentes influyen desfavorablemente en el rendimiento del proceso pues se obtiene baja concentración de producto en la fermentación (Doran 1998).

Además de la fermentación, es necesario considerar otros componentes para el diseño preliminar de un bioproceso, como: el **biocatalizador** que se presenta durante el crecimiento de las cepas empleadas en el bioproceso y si es una enzima se prefiere que sea soluble para bajar costos en la producción (Quintero 1981, Ashie 2003); el **cultivo de cepas** se sujeta a condiciones estables de temperatura, pH, y concentración de nutrientes para que el microorganismo empiece a crecer y a producir los metabolitos de interés (Duarte 1995); el **biorreactor** debe mantener un medio homogéneo sin zonas muertas y a la vez transferir oxígeno al medio empleando el mínimo de energía posible (Junker 2003, Bartow and Spark 2004); la **esterilización** se realiza con vapor de agua a presión sobre el equipo y cuando las limitaciones de temperatura impiden este método se emplean agentes químicos líquidos y gaseosos de acuerdo con las circunstancias (Doran 1998); la **separación de microorganismos** para la purificación del producto deseado por medio de los siguientes procedimientos como: separación mecánica, ruptura de las células, extracción líquido - líquido, fraccionamiento preliminar y etapas de alta resolución (Duarte 1995); la **purificación y aislamiento del producto** depende del grado de pureza requerido y las operaciones más empleadas en esta etapa son: secado, remoción de solventes, filtración, microfiltración, ultrafiltración, osmosis inversa, evaporación, destilación, deshidratación, extracción, intercambio iónico,

adsorción, cromatografía, esterilización y estabilización del producto (Ashie 2003).

Fuera de los componentes anteriores, en un bioproceso es importante establecer los balances de materia y de energía. El **balance de materia** cuantifica las cantidades de materiales involucrados durante la obtención de enzimas, lo cual permite su replica en experimentaciones similares o en escalados, porque todo proceso cumple la Ley de la Conservación. También, es importante realizar el balance de materia para los elementos que participan en el crecimiento de los microorganismos en la fermentación sumergida, que a pesar de las miles de reacciones intracelulares que se presentan, éste crecimiento obedece a la Ley de la Conservación (Doran 1998, Duarte 1995) y se puede describir mediante la siguiente ecuación:



Donde: $C_wH_xO_yN_z$ es la fórmula química del sustrato, $H_5O_3N_1$ es la fórmula química de la fuente de nitrógeno, $CH_2O_2N_m$ es la fórmula química de la biomasa seca y, CO_2 y H_2O son productos de la reacción.

El **balance de energía** evalúa los tipos de energía necesarios en el bioproceso para definir los servicios industriales que requieren las diferentes operaciones. Del mismo modo, se valora la energía requerida para la síntesis de la nueva masa adicional durante el consumo de sustrato por los microorganismos en la fermentación puesto que la energía química que no se aprovecha se libera en forma de calor; entonces el balance de energía de una fermentación, sería (Duarte 1995):

$$q_{MET} + q_{AG} = q_{AC} + q_{BT} + q_{EVAP} + q_{SEN}$$

Donde se considera: la velocidad de generación de calor por la actividad metabólica (q_{MET}) que es el calor asociado con el crecimiento de los microorganismos y también por la formación de productos; la velocidad de generación de calor por agitación mecánica (q_{AG}); la velocidad de acumulación de calor (q_{AC}) que es 0 en condiciones estables; la velocidad de transferencia de calor del reactor con los alrededores (q_{BT}); la velocidad de pérdida de calor por evaporación (q_{EVAP}); y la velocidad de cambio en la entalpía (q_{SEN}) en las corrientes líquida y gaseosa que entran y salen del biorreactor.

MATERIALES Y METODOS

Para el aislamiento de la enzima α -amilasa se realizaron los siguientes procedimientos.

Fermentación. La experimentación del bioproceso durante la investigación, se partió de los resultados del medio líquido experimental (E-1) (Grebechova y Prieto 2004), que contiene: lactosa 6%, extracto de levadura 1%, extracto de maní 1% y sales 1,252%; y se realizó la fermentación sumergida con la cepa *B. subtilis* ATCC 21556 en un biorreactor New Brunswick modelo BioFlo 110, con volúmenes de 3L por triplicado, a las condiciones estudiadas de: temperatura 37°C, pH 6,0 - 6,5 y agitación entre 170 a 200 rpm (Grebechova y Prieto 2004).

Clarificación. Esta operación se llevó a cabo sobre el medio de cultivo sin biomasa, con el fin de retirar residuos de biomasa e insolubles. Se realizó una centrifugación a 3000 revoluciones/minuto durante 20 minutos en una centrifuga Sanyo Centaur 2, y después se filtró con papel filtro para clarificación completa.

Purificación. La metodología seguida consistió en la aplicación de fosfato de calcio al filtrado para absorber proteínas contaminantes, dejando la enzima en solución. El CaHPO₄ es formado

in situ por la mezcla CaCl₂·2H₂O (30%) y Na₂HPO₄·12H₂O (27%), con adición lenta de una solución y después de la otra. El pH se ajusta en 4,5 con HCl 0,1 N. Se agitó y se dejó en el refrigerador, marca Icaesa, durante la noche a 4°C. Finalmente, se separó el líquido del gel fosfato de calcio por centrifugación a 2000 revoluciones/minuto durante 15 minutos.

Concentración. La precipitación de la enzima α-amilasa se hizo con alcohol isopropílico que se adicionó al líquido purificado en la relación 1:1 en volumen a 4°C y agitación continua. Después se dejó en reposo doce horas a la misma temperatura, y se continuó con la recuperación del precipitado por centrifugación a 2000 revoluciones/minuto; finalmente, se liofilizó el sólido congelado en un equipo Labconco para presentar la enzima en estado sólido seco.

Balances de materia y de energía. Una vez establecidas las masas y los volúmenes empleados en cada paso del bioproceso se hallaron los balances de materia y de energía de las operaciones del bioproceso y del crecimiento microbiano en la fermentación sumergida. Para los cálculos del crecimiento de las bacterias se tuvo en cuenta el oxígeno y el consumo del sustrato (H₈O₆N₁) por la bacteria (C_wH_xO_yN_z) para convertirlo en enzima (CH₃O₄N_m), así (Duarte 1995): oxígeno que entra - oxígeno consumido = oxígeno que sale. En el balance de energía se halló el calor de reacción expresado por mol de carbón (Doran 1998): $(\Delta H_R)_C = (\Delta H_S)_C - (\Delta H_P)_C - (\Delta H_X)_C$, donde: $(\Delta H_R)_C$ es el calor producido durante la multiplicación bacteriana o calor de reacción; $(\Delta H_P)_C$ es el calor de combustión de la enzima α-amilasa; $(\Delta H_X)_C$ es el calor de combustión de la bacteria *B. subtilis* ATCC 21556; y $(\Delta H_S)_C$ es el calor de combustión del sustrato o lactosa.

RESULTADOS

La fermentación sumergida de 3L de medio de cultivo líquido con lactosa como sustrato presentó pocos sólidos en suspensión, lo cual facilitó las mediciones necesarias durante la producción de la enzima α-amilasa; además, con el seguimiento del bioproceso se determinaron las operaciones unitarias empleadas, como: **manejo de calor** (siembras/resiembras de la cepa de *B. subtilis*, esterilización del biorreactor con el medio de cultivo, inoculación y fermentación sumergida, y refrigeración), **manejo de reacciones** (inoculación y fermentación sumergida), **manejo de sólidos y fluidos** (centrifugación, mezcla, y filtración), y **transferencia de masa** (inoculación, fermentación sumergida y liofilización). Por consiguiente se determinó el bioproceso con 16 operaciones, donde la fermentación sumergida es la principal operación pues la enzima obtenida según el comportamiento de la cinética enzimática fue de 1,39 unidades de enzima por cada mg de lactosa consumida en un mL (figura 1).

Para realizar el balance de materia del bioproceso, primero se definieron los materiales que entran y salen en cada uno de los equipos empleados y se plantearon los balances globales de materia para una base de cálculos de 3L de medio de cultivo líquido que entra a la fermentación. En la tabla 1 se muestran los resultados del balance de materia de las diferentes operaciones durante la obtención de enzima α-amilasa. En cuanto a la operación de siembra/resiembra de la cepa de *B. subtilis* ATCC 21556, no se incluyó en el cálculo del balance de materia puesto que es una operación que se realiza en forma continua, empleando cajas Petri con Agar LB, y los resultados de ésta operación se reportaron por Grebechova y Prieto (2004). Otro aspecto evaluado en el bioproceso fue el balance de energía para determinar los servicios industriales necesarios. En este bioproceso se emplearon energías: **térmica** (siembras/resiembras de bacterias, esterilización del biorreactor con el medio de cultivo, inoculación, fermentación sumergida, refrigeración, congelación y liofilización); **mecánica** (inoculación, fermentación sumergida y centrifugación); y **humana** (preparación del inóculo de la cepa de bacterias, preparación del medio de cultivo, purificación, y mezcla con isopropanol). Por lo tanto, se utilizó los servicios industriales de: energía eléctrica con un consumo de 310,22 kWh, y 0,582

kg de vapor proveniente de una caldera pirotubular de 5BHP que correspondieron a 1395,2 kJ de calor suministrado.

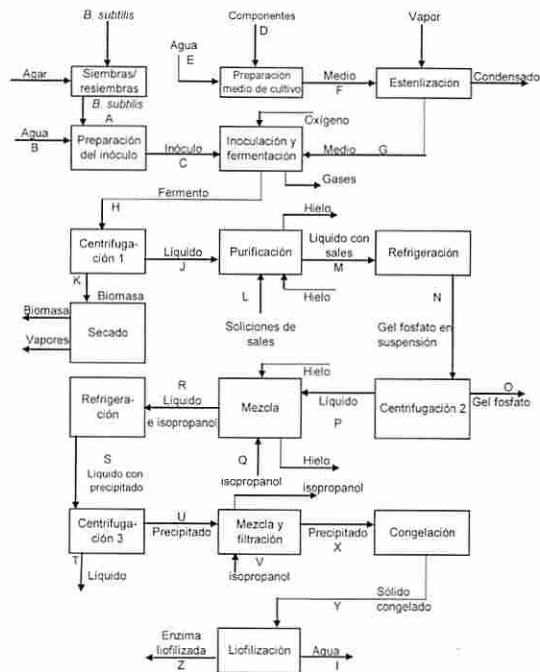
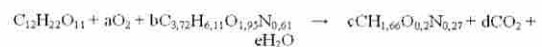


Figura 1. Diagrama de flujo de bloques del bioproceso de obtención de enzima α-amilasa

Tabla 1. Resumen del balance de materia del bioproceso de obtención de enzima α-amilasa

Material	Cantidad	Entra	Salen
Componentes	0,278 kg	Preparación del medio de cultivo	
Agua con componentes	3,000 kg	Preparación del inóculo	
Bacterias <i>B. subtilis</i> ATCC 21556	3 x 10 ⁷ UFC/mL		Fermentación y centrifugación 1
Medio de cultivo	0,30 kg		
Biomasa	0,082 kg		
Soluciones de sales	1 L	Purificación	
Gel fosfato	0,5 kg		Purificación, refrigeración y centrifugación 2
Isopropanol	3,371 kg	Mezcla	
Líquido que contiene isopropanol	6,742 kg		Centrifugación 3
Enzima liofilizada	0,060 kg		Liofilización

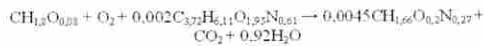
Balance de materia del crecimiento de las bacterias. El balance de materia de los elementos participantes en el crecimiento de bacterias para formar el producto durante las 72 horas que duró la fermentación, desarrolló la siguiente reacción:



Donde: C₁₂H₂₂O₁₁ es la fórmula química de la lactosa (Bernal 1993) (Calvo 2005); C_{3,72}H_{6,11}O_{1,95}N_{0,61} es la fórmula química del extracto de levadura (Universidad de Navarra 2005); y CH_{1,66}O_{0,2}N_{0,27} es la fórmula química de la biomasa seca de *B. subtilis* (Duarte 1995). El balance de materia se realizó sobre una base de cálculos de 1 mol de lactosa que participó en la reacción y se halló una producción de: 0,0014 g de biomasa por cada gramo de sustrato consumido y 0,73 g de enzima por cada gramo de biomasa producida.

Adicionalmente se calculó 0,385 kg de oxígeno consumido durante las 72 horas de fermentación pues ingresó el oxígeno al biorreactor a una velocidad de 0,21 L/min en 1 L de aire limpio/min. Este aire entró a 8 psig y a 18°C. Por consiguiente, ingresó 1,550 kg de oxígeno y de esa cantidad salió 1,165 kg acompañados de 0,728 kg de gases producidos como CO₂ y H₂O.

Balance de energía del crecimiento de las bacterias. Para la fermentación donde se desarrolló energía térmica se consideró la ecuación de crecimiento para las bacterias *B. subtilis*, sobre la base de cálculos de 1mol de C en el sustrato, así:



El calor producido durante el crecimiento, (ΔH_R)_C, de las bacterias fue de - 4606,2 kJ/mol de C el cual se halló a partir: del calor de combustión del producto, (ΔH_P)_C, de - 560 kJ/mol C (Duarte 1995); del calor de combustión de las bacterias, (ΔH_X)_C, de - 478,8kJ/molC (Doran 1998); y del calor de combustión del sustrato, (ΔH_S)_C, de -5645 kJ/mol C (Valiente 1986).

DISCUSIÓN

Algunos investigadores han aplicado metodologías similares para el aislamiento de enzimas, como Alva *et al.* que produjeron enzimas α -amilasa y glucoamilasa en fermentaciones con medio sólido que contenía diferentes fuentes de carbón, entre ellas lactosa; luego de terminada la fermentación, mezclaron el medio líquido con solución búfer fosfato a pH 6,5 y después centrifugaron a 140 rpm, filtraron y centrifugaron a 8000 rpm a 4°C. El líquido crudo obtenido lo filtraron otra vez y detectaron enzima amilasa con 6 UA/mg. Este procedimiento muestra operaciones similares al bioproceso de producción de enzima α -amilasa de ésta investigación pues el tratamiento con la solución búfer para precipitar proteínas indeseables y el manejo de la temperatura baja para mantener estable la enzima.

Por otra parte, Mamo *et al.* obtuvieron enzima amilasa termoestable con una cepa de *Bacillus* sp. de Etiopía en fermentación sumergida entre 48-72 h a 5,5 pH con almidón como sustrato; después de la fermentación, centrifugaron y trataron el sobrenadante con sulfato de amonio al 60% para centrifugar y el precipitado lo diluyeron con solución búfer fosfato con pH 7 y en este líquido detectaron actividad enzimática. En esa investigación se observa la importancia de mantener el medio de cultivo con pH ácido puesto que favorece el crecimiento bacteriano y la formación extracelular de la amilasa; además, incluyeron en su proceso operaciones de separación de sólidos y de líquidos las cuales permiten aislar la enzima. Nuevamente, se encuentran tratamientos parecidos que se emplearon en la presente investigación.

Otra producción de enzimas industriales fue investigada por Mohapatra *et al.* que trabajaron con *Bacillus* aislado de organismos marinos y produjeron enzima amilasa en fermentaciones con poblaciones de 8,7 x 10⁴ a 8,4 x 10⁵ UFC/g y obtuvieron la enzima con una actividad de 0,05 – 0,5 UA/mL. En este tipo de estudio se resalta el manejo de inocular con poblaciones bacterianas altas pues se logra mayor producción de enzima, como en esta investigación que se obtuvo una actividad amilolítica de 9,3 UA/mL con una inoculación de 3 x 10⁷ UFC /mL de bacterias.

Por otro lado, se destaca la eficiencia de la enzima α -amilasa obtenida a partir de *B. subtilis* ATCC 21556, pues se realizaron pruebas de panificación en la Empresa Colombiana Procoharinas Ltda. sobre harina de trigo sin mejorantes. Para estas pruebas se adicionó enzima aislada a la harina en dosis de 30, 60 y 90 ppm y se le agregaron otros ingredientes hasta obtener una masa homogénea, que se pasó a un cuarto de crecimiento a 30°C y 85% de humedad y se horneó a 180°C durante 23 minutos. Estas pruebas se repitieron con la enzima comercial Tenase 1200 Genencor®. A ambos tratamientos se determinaron las siguientes características: volumen, altura, uniformidad de miga, color de miga, gomosidad de miga, textura y humedad; y se encontró un pan de excelente calidad con la enzima aislada frente a la enzima comercial (Martínez y Flechas 2005).

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad De La Salle por el apoyo financiero.

BIBLIOGRAFIA

Alva, S. *et al.* 2007. "Production and characterization of fungal amylase enzyme isolated from *Aspergillus* sp. JG12 in solid state culture". African Journal of Biotechnology, March. 6(5): 576-581

Ashie, I. 2003. Bioprocess Engineering of Enzymes. Food Technology, January. 57(1): 44-51

Bernal de Ramirez, I. 1993. "Análisis de alimentos". Editora Guadalupe Ltda. Bogotá. p: 95

Calvo, Miguel. 2005. "Bioquímica de los alimentos". Universidad de Zaragoza. Ciencia y Tecnología de Alimentos. España. Consulta: Noviembre 2005. [En línea]: <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/azucares/pectinas.html>

Doran, P. 1998. "Principios de ingeniería de los bioprocesos". Editorial Acirbia S.A. España. p: 1-468

Duarte, A. 1995. "Introducción a la Ingeniería Bioquímica". Universidad Nacional de Colombia, Instituto de Biotecnología. Santafé de Bogotá. p: 263- 290

Grebechova R y Prieto L. 2003 a. Evaluación de dos cepas de *Bacillus subtilis* ATCC 21556 y La Salle como productoras de α -amilasa extracelular. Revista de Investigación Universidad De La Salle Bogotá 3: 11-20

Grebechova R y Prieto L. 2003 b. Evaluación de enzimas extracelulares α -amilasa y pectinasa producidas por bacterias del género *Bacillus* y por hongos del género *Aspergillus* para aplicación en procesos alimentarios. Revista de Investigación de la Universidad De La Salle Bogotá, suplemento 3: 45 - 58

Grebechova, R y Prieto, L. 2004. "Biotecnología de las enzimas microbianas pectinasa y amilasa". Universidad De La Salle, Facultad de Ingeniería de Alimentos, Departamento de investigaciones. Bogotá. p: 79

Mahapatra B.R. *et al.* 2003. "Production of industrial enzymes (amylase, carboxymethylcellulase and protease) by bacteria isolated from marine sedentary organisms". Wiley Interscience, January. 23(1): 75-84

Mamo G. *et al.* 1999. "A highly thermostable amylase from a newly isolated thermophilic *Bacillus* sp." Journal of Applied Microbiology, April 86(4): 557-580

Martínez, R. y Flechas, D. 2005. "Aislamiento de α -amilasa a partir de *Bacillus subtilis* ATCC 21556 y su aplicación en harinas de panificación". Universidad De La Salle. Tesis de Ingeniería de Alimentos. Bogotá. p: 79

Quintero, R. 1981. "Ingeniería Bioquímica. Teoría y aplicaciones". Alambra Mexicana. México. p: 1-332

Universidad de Navarra. 2005. "Microbiología general: cultivo de microorganismos". España. [En línea]: <http://www.unavarra.es/genmic/microgral/Tema%202020Cultivo%20de%20microorganismos.pdf>

Valiente, A. y Primo R. 1986. "Problemas de balance de energía". Alhambra Mexicana. México. p: 299

RENDIMIENTOS DE ENZIMAS PECTOLÍTICAS EN FERMENTACIÓN SUMERGIDA A PARTIR DE *Aspergillus niger* y *Aspergillus foetidus*

Prieto, Lena; Grevechova, Renata; Figueroa, Luz Mary; Rozo, Camilo

UNIVERSIDAD DE LA SALLE
 FACULTAD DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS
 Carrera 5 # 59 A 44. E. mail. lprieto@lasalle.edu.co
 BOGOTÁ - COLOMBIA

Palabras claves: biotecnología de alimentos, cinética enzimática, pectinasas, *Aspergillus*

RESUMEN

La producción de las enzimas pectolíticas endopolimetilgalacturonasa (endo-PMG) y pectinesterasa (PE) se realizó en fermentaciones sumergidas con cepas de hongos *Aspergillus niger* y *Aspergillus foetidus*, en un biorreactor New Brunswick modelo BioFlo 110 fermentaciones con 3L de medio de cultivo a 28-30°C, pH 4,5-5,5 y 180-200 rpm de agitación. Durante la investigación se halló la cinética de la fermentación con los siguientes rendimientos para *A. niger* y *A. foetidus*, respectivamente: 14,07 y 11,24 unidades de enzimas pectinasas/mL/(g de biomasa/100 mL); y, 38,13 y 29,5 unidades de enzimas pectinasas/mL/(g de sustrato/100 mL).

INTRODUCCION

Un modelo es un conjunto de relaciones entre las variables de interés del sistema estudiado, y estas relaciones pueden expresarse mediante ecuaciones, gráficas o tablas. En el caso de la cinética enzimática homogénea, las variables de interés son temperatura, concentración, pH, oxígeno disuelto y velocidad de reacción; que permanecen generalmente uniformes en la región de control considerada (Heldman, *et al.* 2003). Por lo tanto, en la cinética de fermentaciones sumergidas donde se desarrolla la producción de enzimas, es importante entender el comportamiento de las velocidades de biosíntesis microbiana y de formación de productos; con el fin de establecer el modelo cinético de dicha fermentación para aplicarlo en futuros procesamientos (Doran 1998).

Las velocidades de consumo de sustrato y de formación de producto dependen del microorganismo específico y de las variables de fermentación que favorecen el crecimiento. Estas velocidades generalmente son evaluadas a partir de datos experimentales o mediante analogías de procesos similares (Doran 1998).

A nivel nacional e internacional las investigaciones de diferentes tipos de fermentaciones (alcohólicas, lácticas, acéticas, de células animales o vegetales, enzimáticas, entre otras), continúan con el estudio de cinética de fermentaciones para fijar los parámetros que se requieren para el diseño del bioproceso como: temperatura, pH, demanda de oxígeno y contenido de nutrientes (Ashie 2003; Bartow *et al.* 2004).

Por lo expuesto anteriormente, se permite evaluar el proceso de obtención de las enzimas pectolíticas a partir de los hongos *A. niger* y *A. foetidus*, logrando la obtención de estos biocatalizadores para la aplicación en diferentes procesos industriales alimentarios; debido a ello se investigan modelos predictivos, ya que su ausencia dificulta la selección de un modelo adecuado para la explicación del proceso bioquímico en cualquier escala de producción (Martínez *et al.* 2003). El objetivo de la presente investigación fue la determinación de los rendimientos de la cinética de multiplicación de las cepas *A. niger* y *A. foetidus* en el biorreactor donde se realizó la fermentación con las variables definidas de: temperatura, pH y velocidad de agitación para la producción de las enzimas pectolíticas endo-PMG y PE.

MATERIALES Y METODOS

Para realizar los rendimientos de la cinética de crecimiento se tomaron muestras en 0, 12, 24, 36, 48, 72 y 96 horas de fermentación. Después de separar la biomasa de la fermentación del medio de cultivo seleccionado E-4 (Grebechova y Prieto 2006), se determinó las cantidades de

biomasa, de sustrato y de productos presentes en el líquido. Cada evaluación se realizó por triplicado.

Determinación de sustrato presente en el medio. El sobrenadante de la centrifugación se colocó en tubos estériles y se realizó el análisis de la actividad pectinolítica para cada muestra y así se encontró la cantidad de sustrato presente en el medio líquido a medida que transcurrió la fermentación. Esta actividad se halló por medio de la Técnica Miller *et al.* descrita por Arroyo (2002), la cual consiste en evaluar la liberación de azúcares reductores de la pectina empleando el reactivo 3,5-dinitrosalicílico (DNS) y la medición colorimétrica con lectura de absorbancia en una cubeta de 1cm de camino óptico y con una longitud de onda de 540 nm, en el espectrofotómetro marca Spectronic. Para encontrar la concentración de azúcares reductores (g/100 mL) en las muestras, se halló la ecuación de la curva patrón de ácido D-galacturónico y la siguiente fórmula:

$$X = \frac{DO - b}{m}$$

donde: X = concentración de sustrato en g/100 mL, DO = densidad óptica (absorbancia), b = intercepto de la recta, y m = pendiente de la recta.

Determinación de productos. La actividad pectolítica se determinó en el sobrenadante centrifugado, así: la enzima endo-polimetilgalacturonasa (endo-PMG) se halló con la Técnica de Mill y Tuttobello, y la enzima pectinesterasa (PE) con la Técnica Gracheva (Grebechova y Prieto 2006).

Determinación de biomasa. Las cantidades de biomasa se hallaron según la metodología descrita por Grebechova y Prieto (2006).

Determinación de rendimientos de la cinética de crecimiento. La cinética de crecimiento de los hongos *Aspergillus* empleados durante las fermentaciones sumergidas de 3 L de volumen en el biorreactor New Brunswick BioFlo 110, se determinó al graficar las cantidades de biomasa en el tiempo para conocer las fases de crecimiento de cada cepa *Aspergillus*.

Luego se procedió a determinar los rendimientos en la fase exponencial (Doran 1998, Duarte 1995, Quintero 1981), así: **velocidad específica de formación de producto**, muestra la rapidez de cada hongo durante el consumo de sustrato de pectina cítrica para convertirlo en las enzimas endo-PMG y PE; para ello, se tuvo en cuenta la biomasa producida (X) en g/100 mL y las enzimas producidas endo-PMG y PE en unidades/mL (P) con respecto al tiempo de fermentación (t); **velocidad específica de consumo de sustrato**, mide la rapidez con la que las cepas *Aspergillus* consume la pectina cítrica para las fermentaciones sumergidas, y se determinó con los contenidos de biomasa en el tiempo de fermentación y los valores de sustrato presente en el medio líquido a medida que transcurrieron las 96 horas de fermentación; **rendimiento de producto en biomasa global**, es el valor medio durante el periodo completo de fermentación, y se calcula con la diferencia entre los valores iniciales y finales de los productos formados y de la biomasa presente en el medio líquido; **rendimiento de producto en sustrato global**, es el valor medio durante el periodo completo de fermentación, y se calcula con la diferencia entre los valores iniciales y finales de

los productos formados y del sustrato consumido durante la fermentación sumergida; y **rendimiento de biomasa en sustrato global**, es el valor medio durante el periodo completo de fermentación, y se calcula con la diferencia entre los valores iniciales y finales de la biomasa presente en el medio líquido y del sustrato consumido por los microorganismos.

RESULTADOS

Primero se observó las fases de crecimiento de las dos cepas empleadas y en la figura 1 se muestra que la fase logarítmica para *A. niger* está entre las 24 y 72 horas y para *A. foetidus* está entre las 12 y 72 horas.

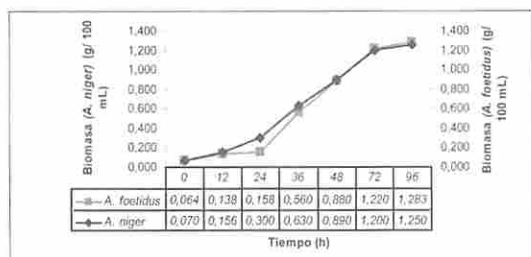


Figura 1. Crecimiento de *A. niger* y *A. foetidus* en el tiempo de fermentación

Después, los resultados promedio de biomasa (X) en el tiempo de fermentación se relacionaron con el primer dato de biomasa como la base (X₀), y se graficaron los logaritmos de las relaciones de biomasa durante el tiempo donde se produjo las enzimas endo-PMG y PE; lo anterior se aplicó entre 24 y 72 horas, período que muestra el mayor crecimiento de los hongos *Aspergillus*. En la figura 2 se observan las linealizaciones, es decir, la ecuación matemática que explica el comportamiento de los datos de ln X/X₀, con una alta correlación (R²), y se encontraron las pendientes de cada recta, que corresponden a la velocidad total (μ_{total}) de crecimiento de cada hongo entre las 24 y 72 horas, así: 0,642 g de biomasa se produce/100 mL*h para el hongo *A. niger*, y de 0,431 g de biomasa se produce/100 mL*h para el hongo *A. foetidus*.

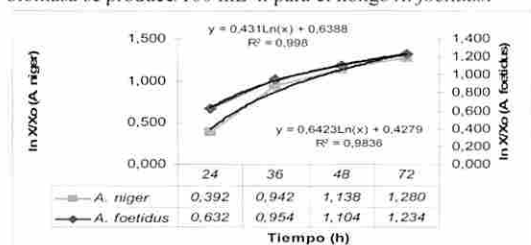


Figura 2. Producción de biomasa en fermentaciones con *A. niger* y *A. foetidus*

Velocidad específica de formación de producto. Inicialmente, se encontró la velocidad de producción volumétrica de cada enzima producida (Tabla 1) en los intervalos de tiempo, así:

$$\mu_p = \frac{P_2 - P_1}{t_2 - t_1}$$

Y después, se relacionó la velocidad anterior sobre la biomasa promedio de cada intervalo de tiempo; y se obtuvo que, la velocidad específica de formación de la enzima endo-PMG de la fermentación con *A. niger*, inició con 5,59 unidades formadas/mL*h/(g biomasa/100mL) y después decreció a medida que se fue consumiendo el sustrato; y la velocidad específica de formación de la enzima PE inició con 0,17 unidades formadas/mL*h/(g biomasa/100mL) para después ir disminuyendo al tener menos sustrato el microorganismo.

Por otra parte, para la fermentación con *A. foetidus*, comenzó la velocidad específica de formación de enzima endo-PMG con 1,16 unidades formadas/mL.h/(g biomasa/100mL) y en la 36 horas aumento hasta 1,9 y en las 72 horas se mantuvo alto el valor, pero es más baja la velocidad con respecto al *A. niger*; en cuanto a la velocidad de formación de la enzima PE que empezó con 0,125 unidades formadas/mL.h/(g

biomasa/100mL) y después continuó decreciendo esta velocidad.

Tabla 1. Producción de enzimas pectolíticas en el tiempo de fermentación para las cepas *A. niger* y *A. foetidus*

Cepa	Tiempo	Enzima endo-PMG unidades/mL		Enzima PE unidades/mL	
		Enzima endo-PMG unidades/mL	Enzima PE unidades/mL	Enzima endo-PMG unidades/mL	Enzima PE unidades/mL
<i>A. niger</i>	0	0	0	0	0
	12	0	0,21	0,17	0,17
	24	9,94	0,43	0,32	0,32
	36	28,3	0,79	0,37	0,37
	48	36,81	0,84	0,41	0,41
	72	52,9	0,90	0,63	0,63
96	92,5	0,97	0,79	0,79	
<i>A. foetidus</i>	0	0	0	0	0
	12	0	0,17	0,17	0,17
	24	0	0,32	0,32	0,32
	36	0,30	0,53	0,53	0,53
	48	0,63	0,79	0,79	0,79
	72	1,16	1,16	1,16	1,16
96	1,9	1,9	1,9	1,9	

Las figuras 3 y 4 muestran la formación de cada enzima entre las 24 y 72 horas; para la cepa de *A. niger* de 29,26 unidades/mL de enzima endo-PMG y de 0,337 unidades/mL de enzima PE; y para la cepa de *A. foetidus* se encuentra una formación de 0,754 unidades/mL de enzima endo-PMG y de 0,213 unidades/mL de enzima PE.

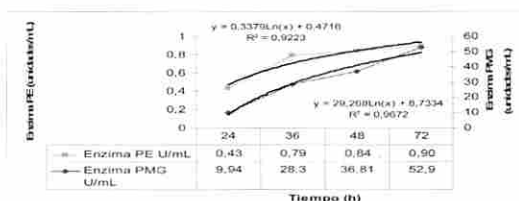


Figura 3. Formación de enzimas endo-PMG y PE para *A. niger*

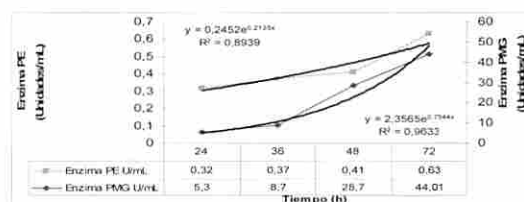


Figura 4. Formación de enzimas endo-PMG y PE para *A. foetidus*

Velocidad específica de consumo de sustrato. En la Tabla 2 se observan las cantidades de sustrato presente y de sustrato consumido por las cepas de hongos; las primeras cantidades se midieron según la Técnica Miller *et al.* (Arroyo 2002), y las segundas cantidades por diferencias con el valor inicial. La velocidad específica de consumo de sustrato se halló con la siguiente relación:

$$\mu_s = \frac{1}{X} \times \frac{S_2 - S_1}{t_2 - t_1}$$

Las siguientes velocidades específicas se encontraron: 0,413 g sustrato consumido/100 mL.h.(g biomasa/100mL) inicia la fermentación con cepa *A. niger* y después va decreciendo; y 0,295 g sustrato consumido/100 mL.h.(g biomasa/100mL) comienza la fermentación con cepa *A. foetidus* y después va disminuyendo. De otra parte, al graficar sustrato consumido contra el tiempo de fermentación, se encuentra que entre las 24 y 72 horas se consume 0,326 g de sustrato pectina cítrica/mL.h para el *A. niger*, y 0,473 g de sustrato consumido/mL.h para el *A. foetidus* (figura 5).

Rendimiento de producto en biomasa global. Primero se halló el rendimiento con las condiciones iniciales y finales de los productos formados y de la biomasa, así:

$$Y_p / x = \frac{P_2 - P_1}{X_2 - X_1}$$

Para las fermentaciones sumergidas de la investigación se encontró los siguientes valores de rendimiento de producto en biomasa global:

Tabla 2. Cantidades de sustrato presente y consumido (g/100mL)

	<i>A. niger</i>			<i>A. foetidus</i>		
	Cepa	Tiempo	Sustrato	Cepa	Tiempo	Sustrato
<i>A. niger</i>	0	2,0	0	0	2,0	0
	12	1,5	0,5	22	1,6	0,4
	24	1,1	0,9	30	1,5	0,5
	36	0,6	1,4	48	1,2	0,8
	48	0,3	1,7	56	0,7	1,3
	72	0,08	1,92	72	0,09	1,91
96	0,05	1,95	96	0,05	1,95	

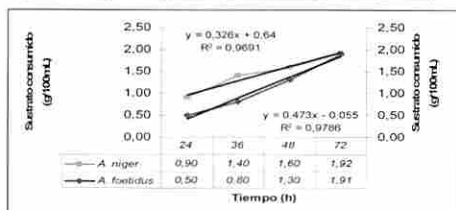


Figura 5. Sustrato consumido en el tiempo de fermentación para *A. niger* y *A. foetidus*

con cepa *A. niger* es de 75,88 (unidades de endo-PMG/mL)/(g/100mL) y de 0,80 (unidades de PE/mL)/(g/100mL) y, con cepa *A. foetidus* es de 69,66 (unidades de endo-PMG/mL)/(g/100mL) y de 0,67 (unidades de PE/mL)/(g/100mL); lo cual indica que en ambas cepas a medida que aumenta la biomasa en cada hora de fermentación se va produciendo más enzima endo-PMG que la enzima PE.

Rendimiento de producto en sustrato global. Este rendimiento se halló con las condiciones iniciales y finales de las enzimas formadas y del sustrato consumido, así:

$$Y_{P/S} = \frac{P_2 - P_1}{S_2 - S_1}$$

En las fermentaciones sumergidas se encontraron los siguientes valores de rendimiento de producto en sustrato global: con cepa *A. niger* es de 47,44 (unidades de endo-PMG/mL)/(g/100mL) y de 0,50 (unidades de PE/mL)/(g/100mL) y, con cepa *A. foetidus* es de 42,15 (unidades de endo-PMG/mL)/(g/100mL) y de 0,41 (unidades de PE/mL)/(g/100mL), lo cual indica que a medida que se consume el sustrato se produce más unidades de enzima endo-PMG para ambas cepas durante todo el tiempo de fermentación.

Rendimiento de biomasa en sustrato global. Con las condiciones iniciales y finales de biomasa y de sustrato consumido se halló este rendimiento, así:

$$X/S = \frac{X_2 - X_1}{S_2 - S_1}$$

En la investigación se encontraron los siguientes valores de rendimiento global: con cepa *A. niger* es de 0,63 (g de biomasa/mL)/(g sustrato consumido/100mL) y con cepa *A. foetidus* es de 0,61 (g de biomasa/mL)/(g sustrato consumido/100mL).

En cuanto a los **rendimientos observados** para los productos, biomasa y sustrato se muestran en Prieto *et al.* (2007). Una vez determinados los rendimientos de la cinética enzimática se aplicaron los resultados de biomasa, sustrato y productos para hallar los modelos cinéticos de Lineweaver-Burk y de Langmuir que muestran matemáticamente la producción de las enzimas pectolíticas endo-PMG y PE a partir de las cepas *Aspergillus* (Prieto *et al.* 2007).

DISCUSIÓN

En la fermentación sumergida se halló una mayor formación de enzima endo-PMG (Grebechova y Prieto 2006) para ambas cepas de *Aspergillus*, igualmente se mostró más alta formación de enzima endo-PMG de 29,26 unidades/mL para *A. niger*. Acuña-Argüelles *et al.* (1995) reportaron para las fermentaciones sumergidas investigadas con medios de cultivo que contenían pectina como sustrato, altos rendimientos de enzimas pectinasas producidas con *A. niger* CH4, valores de 69,4 mg/mL de actividad enzimática. Por otra parte, Arroyo

(2002) reportó una producción de enzimas pectinasas de 0,65 U/mL de actividad enzimática, en tres días de producción de enzimas pectinasas, a partir de cáscaras de naranja, empleando *Actinomyces naeslundii*; valor cercano al encontrado para la obtención de enzima endo-PMG con *A. foetidus* de 0,754 U/mL. Además Arroyo (2002) reportó que otros investigadores obtuvieron enzimas pectinasas empleando en las fermentaciones cáscara de yuca y limón con *A. niger* ATCC 10864, con una productividad volumétrica de 0,4344 U/mL y 0,039 U/mL; valores similares a los encontrados para la producción de enzima PE con ambas cepas de *Aspergillus*. Villena y Gutiérrez-Correa (2007) logró la producción de enzimas lignocelulolíticas con biopelículas de *A. niger* bajo el concepto de fermentación por adhesión a superficies y, contrastó este tipo de fermentación con fermentación sumergida; obteniendo para estas últimas fermentaciones valores mayores como 0,6 U/mL, 0,7 U/mL y 1,5 U/mL de actividades enzimáticas. Sus observaciones confirman que la fermentación sumergida es un buen procedimiento para obtener enzimas. En esta investigación mostraron valores cercanos de enzimas endo-PMG (0,754 U/mL) y PE (0,213 U/mL) obtenidas por medio de fermentación sumergida. La cinética enzimática con *A. niger* mostrada por Villena y Gutiérrez-Correa (2007) para el cultivo con biopelículas y para la fermentación sumergida en la producción de celulasas y xilanasas, la velocidad de crecimiento (μ_{max}) fueron de 0,061 h⁻¹ y de 0,048 h⁻¹ respectivamente. Mientras que la velocidad de crecimiento para la fermentación sumergida realizada para obtener enzimas pectinasas con *A. niger* por Prieto *et al.* (2007) fue un valor cercano, de 0,09 h⁻¹ y con *A. foetidus* fue de 0,0213 h⁻¹. Sin embargo, para ambas cepas de *Aspergillus* el sustrato consumido entre 24 y 72 horas es cercano (0,326 g/mL.h y 0,473 g/mL.h) presentando un mayor trabajo metabólico la cepa *A. foetidus*. Pero el rendimiento de biomasa en sustrato global es similar para ambas cepas (0,63 y 0,61 (g de biomasa/mL)/(g sustrato consumido/100mL)) donde la biomasa formada en promedio es 0,6 g por cada gramo de sustrato consumido.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad De La Salle por el apoyo financiero.

BIBLIOGRAFIA

Acuña-Argüelles *et al.* 1995. Production and properties of three pectinolytic activities produced by *Aspergillus niger* in submerged and solid-state fermentation. *Applied Microbiol. Biotechnology*, 43:808-814

Arroyo, A. 2002. "Producción de enzimas pectinasas por *Actinomyces* en cultivo sumergido utilizando pectina y cáscara de naranja". Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Tesis de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, Magister en Biotecnología. Lima.

[En línea]: http://biblioteca.universia.net/html_bura/ficha/params/id/28654.html

Ashie, I. 2003. *Bioprocess Engineering of Enzymes*. Food Technology, January, 57(1): 44-51

Bartow *et al.* 2004. Bioreactor desing for mammalian cell cultures. *Chemical engineering*, 111 (1): 49-54

Doran, P. 1998. "Principios de ingeniería de los bioprocesos". Editorial Acribia S.A. España. p: 1-468

Duarte, A. 1995. "Introducción a la Ingeniería Bioquímica". Universidad Nacional de Colombia, Instituto de Biotecnología. Santafé de Bogotá. p: 263-290

Grebechova, R. y Prieto, L. 2005. "Producción, purificación y caracterización de la enzima pectinasa aislada de *Aspergillus niger* y *Aspergillus foetidus*". Universidad De La Salle, Facultad de Ingeniería de Alimentos, Departamento de investigaciones. Bogotá

Grebechova, R. y Prieto, L. 2006. Biosíntesis de las enzimas pectolíticas a partir de hongos *Aspergillus niger* y *Aspergillus foetidus* para aplicación en industria de alimentos. *Revista de Investigaciones Universidad De La Salle*. Bogotá. 6(2):153-161

Heldman, *et al.* 2003. Kinetic Models for microbial survival during processing. *Food Technology*, August, 57(8): 40-46,100

Martinez *et al.* 2003. Aislamiento e identificación de cepas de *Aspergillus* productores de enzimas pectinas. *La alimentación Latinoamericana*. 246: 44-50

Prieto *et al.* 2007. Kinetics of the pectolytic enzymes endo-polymergalacturonase and pectinesterase from *Aspergillus niger* and *Aspergillus foetidus*. *American Biotechnology Laboratory*. 25(7): 24-25

Quintero, R. 1981. "Ingeniería Bioquímica. Teoría y aplicaciones". Alambra Mexicana. México. p: 1-332

Villena, G. y Gutiérrez-Correa, M. 2006. Production of cellulase by *Aspergillus niger* biofilms developed on polyester cloth. *Letters in Applied Microbiology*. 43:262-268.

Villena, G. y Gutiérrez-Correa, M. 2007. Production of lignocellulolytic enzymes by *Aspergillus niger* biofilms at variable water activities. *Electronic Journal of Biotechnology*. 10(1)

[En línea]: <http://www.ejbiotechnology.info/content/vol10/issue1/index.html>

EVALUACIÓN DE LA APLICACIÓN DE ENZIMA PECTINASA OBTENIDA A PARTIR DE *Aspergillus niger* EN EL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE PULPA DE ARAZÁ (*Eugenia stipitata* *sororia*) CONCENTRADA AL VACÍO

Beltrán, Andrea; Fonseca, Oscar; Guerrero, Yudy; Prieto, Lena

UNIVERSIDAD DE LA SALLE

FACULTAD DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS

Carrera 5 # 59 A 44. E. mail. lprieto@lasalle.edu.co

BOGOTÁ - COLOMBIA

Palabras claves: biotecnología de alimentos, pectinasa, arazá, pulpa concentrada al vacío

RESUMEN

En este proyecto se evaluó la influencia de la enzima pectinasa obtenida experimentalmente a partir del hongo *Aspergillus niger*, con actividades de endopolimetilgalacturonasa de 97,0 unidades/mL y de pectinesterasa de 1,12 unidades/mL, en el proceso de obtención de pulpa de arazá concentrada frente a enzimas comerciales de origen fúngico como PECTINEX® ULTRA SP-L y RAPIDASE® C80MAX. En la evaporación de la pulpa de arazá, se aumentó de la cantidad de sólidos solubles hasta 11°Brix, y se disminuyó la viscosidad de la pulpa para una mejor transferencia de calor en el equipo con menor pérdida de calor, menor tiempo de proceso, menor consumo de energía y mayor rendimiento de pulpa concentrada obtenida. El mejor tratamiento enzimático fue con la enzima comercial RAPIDASE® C80MAX y se obtuvo una pulpa concentrada de 635 cP con un rendimiento de 49,39% en la evaporación donde se perdió 1451 kJ de calor para un coeficiente global de 19,232 W/m²°C y se consumió 5,21 kWh. Para determinar el comportamiento de las pulpas de arazá tratadas con y sin enzima pectinasa durante la evaporación al vacío, se controlaron variables como la presión de vacío dentro de la cámara de evaporación de 14 inHg a 16inHg, la presión de vapor proveniente de la caldera que entra a la camisa de 66psi a 72psi, la temperatura de evaporación de 59°C a 62°C, y temperatura de la alimentación entre 47°C y 49°C. Los tres procesos mostraron una economía de vapor de 0,9, lo que demuestra la eficiencia del evaporador.

INTRODUCCIÓN

Los frutos exóticos son bastante apetecidos por los consumidores a nivel nacional e internacional, debido a la tendencia de consumir alimentos sanos con un alto aporte nutricional. En la actualidad algunos de estos frutos tienen poca difusión o solo se conocen en las regiones que se cultivan, debido a que tienen una vida útil corta y por consiguiente se dificulta el proceso de comercialización. Este es el caso del arazá (*Eugenia stipitata*), originario de la Amazonia Occidental del Perú, su dispersión geográfica se extiende a Brasil, Ecuador, Perú y Centro América (Argüello 1998). En Colombia se cultiva en los Departamentos de Caquetá, Guaviare, Amazonas, Meta, Cundinamarca, Antioquia y Putumayo.

El arazá se considera como un fruto perecedero y bastante delicado, que se ablanda con facilidad, se recomienda que sea procesado en forma de pulpa lo más rápido posible, para luego guardarla en congelación o refrigeración hasta el momento de su comercialización o para utilizarla en la obtención de otros productos (Nascimento 1999). La pulpa de arazá se puede aprovechar en la producción de refrescos, dulces, néctares, jaleas, licores, yogures, mermeladas, helados, entre otros. Este fruto posee un alto contenido de humedad, alrededor del 90%, una ventaja que le confiere un alto rendimiento en el proceso de extracción de pulpa, con pH de 2,0 a 2,5 y 4 °Brix. Además, sus características nutricionales contribuyen a satisfacer los requerimientos mínimos de proteína, fibra y vitamina A y C (Hernández 2001).

Por otra parte, la transformación de frutas en pulpas ha permitido contar con disponibilidad de frutas en épocas fuera de cosecha; por ello, las pulpas que se encuentran en el mercado son: congeladas, esterilizadas, pasteurizadas y concentradas. En este caso se sometió la pulpa de arazá a un proceso de evaporación, el cual consiste en retirar parte del agua propia de

la fruta, lo que proporciona una mayor estabilidad biológica, contribuyendo de esta manera a la conservación del producto debido a que la actividad de agua disminuye, la acidez y la concentración de los sólidos solubles aumentan. En la industria alimentaria la evaporación se utiliza con el fin de reducir el volumen del líquido, para abaratar los costos de almacenamiento, envasado y transporte.

Cada día se conocen nuevas tecnologías y operaciones que pueden acelerar, retardar o proporcionar beneficios a los procesos de transformación y aprovechamiento de las frutas, como es el caso de las enzimas desarrolladas por medio de la Biotecnología. En este momento en el mercado hay diferentes enzimas empleadas en los procesos de obtención de pulpas de frutas, como las pectinasas, las cuales brindan mayores ventajas puesto que permiten estandarizar las condiciones en los procesos, aumentar rendimientos, disminuir costos y mejorar características fisicoquímicas y sensoriales de los productos (Byong 2000).

Las pectinasas son un conjunto de enzimas que hidrolizan la pectina, están ampliamente distribuidas en la naturaleza y son producidas por vegetales, frutas y microorganismos (hongos y bacterias). Estas enzimas presentan una extensa aplicación en la industria alimentaria, siendo utilizadas principalmente en la obtención de pulpas, jugos, vinos y cervezas. Las pectinasas se clasifican en: enzimas desesterificantes (pectinesterasas), enzimas despolimerizantes (hidrolasas y liasas) y protopectinasas (Soriano 2004). Las enzimas pectolíticas, endopoligalacturonasa (endo-PMG) o pectinesterasa (PE), son apropiadas para hacer más eficiente el proceso de obtención de pulpas concentradas, presentando las siguientes ventajas (González 2004; Janser 1997): en el proceso de despulpado se obtiene un mejor rendimiento, reduce la viscosidad de las pulpas hasta en un 90%, y aumenta los sólidos solubles (°Brix) en un 30%.

MATERIALES Y METODOS

Obtención de la enzima pectinasa. Para la obtención de la enzima se siguió la metodología propuesta Grebechova y Prieto 2006. Después de obtenerla se determinaron las actividades endopolimetilgalacturonasa (endo-PMG) y pectinesterasa (PE), con el fin corroborar la producción de enzima durante la fermentaciones (Grebechova *et al.* y Prieto *et al.* 2007).

Tratamiento enzimático en la pulpa de arazá. Para seleccionar los parámetros del tratamiento enzimático se tomaron muestras de 90g de pulpa de arazá a las cuales se les adicionaron concentraciones de 150ppm, 90ppm y 30ppm de enzima PECTINEX® ULTRA SP-L y se utilizaron las mismas concentraciones para la enzima RAPIDASE® C80MAX; para la enzima pectinasa aislada se empleó concentraciones de 50ppm, 38ppm y 23ppm. Cada una de las muestras se incubaron a temperatura de 20°C, 35°C y 50°C durante 60 horas. La pulpa sin enzima se utilizó como blanco, con el fin de comparar la influencia de los tratamientos enzimáticos. Cada ensayo se realizó por triplicado. Las concentraciones de enzima utilizadas son diferentes entre las enzimas comerciales y la enzima obtenida, debido a que las enzimas comerciales son diluidas y la enzima obtenida fue sometida a un proceso de concentración. Con el fin de seleccionar la concentración de enzima a utilizar, la temperatura de incubación y el tiempo de pectólisis en que actúa la enzima sobre la pulpa de arazá; se evaluó el aumento de sólidos solubles de la pulpa por método refractométrico y la reducción de viscosidad utilizando el

viscosímetro de bola, su valor se determinó (μ) con la ecuación de Stokes (García 1998). Los resultados se analizaron con análisis de varianza aleatorizado de una vía, con igual número de repeticiones, a una confiabilidad del 95%, y con el programa *Statistix* 8.1. Finalmente se aplicó la prueba de Tukey.

Caracterización del arazá. El fruto utilizado para los procesos es de subespecie *sororia*, en estado maduro. Las características fisicoquímicas halladas fueron: humedad (AOAC 920.151/90), cenizas (incineración directa), sólidos totales (AOAC 932.12/90, AOAC 922.10/90), azúcares totales (método Eynon Lane), proteína (método Lowry) y grasa (método Soxhlet) (Bernal 1998).

Obtención de pulpa de arazá concentrada al vacío. El proceso se llevó a cabo en la Planta Piloto de Frutas y Verduras de la Universidad De La Salle. La obtención de la pulpa de arazá se realizó por triplicado, y después se les aplicaron tratamientos enzimáticos (con enzima comercial seleccionada y con enzima obtenida experimentalmente). La pulpa concentrada se obtuvo con la metodología que se describe a continuación: se realizó una **recepción** donde se pesó la cantidad de materia prima, se **seleccionaron** las unidades que presentaban daños físicos y biológicos graves, se **clasificó** los frutos con grado de madurez óptimo para el proceso, se hizo un **lavado y desinfección** por inmersión en una solución de agua potable y Timsen® al 2%, se **adecuó el fruto** con troceado para disminuir el tamaño, se **escaldó** por inmersión de las frutas en una marmita con agua caliente a presión atmosférica, se continuó con el **despulpado y refinado** para someter la pulpa refinada al **tratamiento enzimático** con el fin de degradar las pectinas solubles e insolubles y los polisacáridos que producen turbidez. Para establecer las diferencias se preparó un blanco donde la pulpa no es sometida a ningún tratamiento enzimático.

En esta etapa hay que tener en cuenta los parámetros como concentración de la enzima, tiempo de pectólisis y la temperatura de incubación. Después se realizó la **concentración** de la pulpa de arazá en un evaporador de efecto simple con camisa y agitación de capacidad de 60L marca J.J. Industrial, ubicado en las Plantas Piloto de Frutas y verduras de la Universidad de la Salle, con las siguientes condiciones de operación: temperatura de la alimentación entre 47°C y 49°C; tiempo de estabilización del equipo 15 minutos; presión de vacío en el rango de 14 inHg a 16inHg; presión de entrada de vapor en el rango de 66psi a 72psi; presión de camisa en el rango de 9psi a 11psi; temperatura de producto en el rango de 59°C a 62°C; temperatura de agua de enfriamiento 20°C; y temperatura de condensado en el rango de 48 °C a 51°C.

Al final del proceso de concentración se determinó: rendimientos, eficiencia e influencia que tiene la pectinasa en las pulpas; por medio de cálculos de balance de materia y energía, y de transferencia de calor en estado estacionario para el evaporador de simple efecto. La economía de vapor se halló para identificar la eficiencia del sistema de evaporación, con el vapor consumido (proveniente de caldera) y el vapor producido en el evaporador (Orrego 2003). Por último, la pulpa de arazá concentrada fue **empacada** y se procedió a una **pasteurización**, donde se sometió la pulpa empacada a un calentamiento por inmersión a 80°C por 15 minutos para inactivar la pectinasa y garantizar la calidad microbiológica del producto terminado, y mediante inmersión del producto en agua fría, se hizo un **choque térmico** para **almacenarlo** en congelación (figura 1).

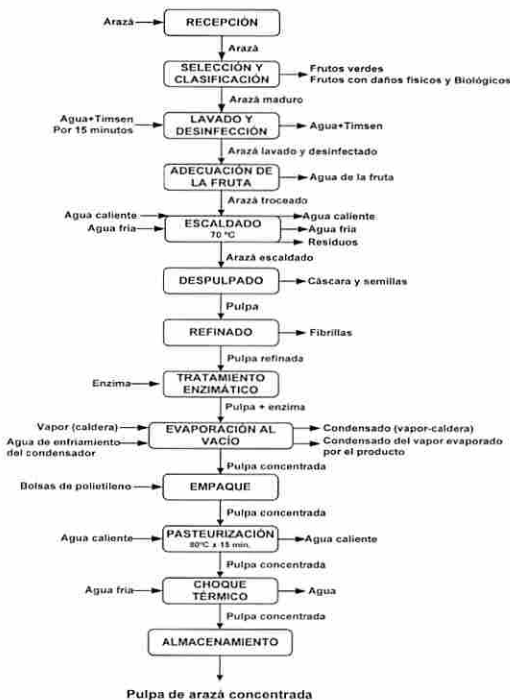


Figura 1. Diagrama de flujo del proceso de pulpa de arazá concentrada.

ANÁLISIS Y RESULTADOS

Enzima pectinasa obtenida. La enzima presentó valores de 97,005 unidades/mL de actividad endo-PMG y 1,12 unidades/mL para la actividad PE. Los valores de las actividades pectolíticas obtenidos son similares a los reportados por Grebechova *et al.* (2007) y Prieto *et al.* (2007), lo que indicó que hubo producción de enzimas pectinasas para el tratamiento enzimático de la pulpa de arazá.

Caracterización del arazá. El fruto utilizado para el proceso estaba en estado maduro, de forma redondeado, con cáscara de color amarillo verdoso claro a amarillo intenso. La pulpa es de color amarillo, de consistencia blanda, con presencia de fibrillas, se caracteriza por ser aromática y ácida. La cavidad interior del fruto esta ocupada por un número de 2 a 10 semillas de 1cm a 2cm de longitud. Las características fisicoquímicas de la pulpa del arazá varían según la subespecie, los tratamientos de cultivo, condiciones de cultivo (temperatura, precipitación, luz, humedad, tipo de suelo), condiciones de cosecha y poscosecha; por lo tanto los valores son cercanos a lo reportado por Nacimiento (1999).

Parámetros del tratamiento enzimático. La pulpa refinada estaba con pH promedio de 2,68 para el tratamiento enzimático. Con la enzima PECTINEX® ULTRA SP-L se alcanzó 4,8 °Brix y con RAPIDASE® C80MAX la pulpa tratada llegó a 5,2 °Brix, al igual con la enzima obtenida. Los valores de viscosidad fueron de 44.000cP para PCSE, 4.539cP para PCCR y 5.908cP para PCCPO. Por lo anterior se estableció que para la obtención de pulpa de arazá concentrada al vacío, se utilizaría enzima comercial RAPIDASE® C80MAX a una concentración de 150ppm y enzima pectinasa obtenida a 50ppm, ambas con un tiempo de pectólisis de 120 minutos y temperatura de incubación de 50°C.

Obtención de pulpa de arazá concentrada al vacío. El proceso de obtención de pulpa de arazá concentrada de 11°Brix se realizó con los siguientes ensayos: pulpa de arazá concentrada sin enzima (PCSE), pulpa de arazá concentrada tratada enzimáticamente con RAPIDASE® C80MAX (PCCR) y pulpa de arazá concentrada tratada con la enzima pectinasa obtenida experimentalmente (PCCPO). Para una base de cálculo de 90kg de arazá se realizó el balance de materia y se obtuvo un rendimiento de despulpado de 88,89%. En la etapa de tratamiento enzimático se logró en el ensayo PCSE 4 °Brix y 44 000 cP de viscosidad, en el ensayo PCCR 5,2 °Brix y 4 539 cP, y en el último ensayo PCCPO 5,2 °Brix y 5 908 cP. Con estas condiciones cada ensayo se llevó al evaporador. El tratamiento enzimático influyó en la evaporación con el aumento de sólidos solubles en el tiempo, como se observa en la figura 2. Las evaporaciones de los tres ensayos tomaron tiempos de 80 minutos, 50 minutos y 60 minutos para la pulpa sin tratamiento enzimático, la pulpa con RAPIDASE® C80MAX y la pulpa con la enzima obtenida respectivamente, lo que indica que el empleo de pulpas tratadas con enzima en la etapa de evaporación disminuye en gran medida el tiempo de retención del producto en el evaporador, haciendo así más eficiente el proceso y disminuyendo costos de producción. Igualmente la viscosidad se afectó puesto que se obtuvo pulpa concentrada con menor viscosidad, así: en el ensayo PCSE 110 022 cP, en el ensayo PCCR 11 635 cP, y en el último ensayo PCCPO 28 300 cP. Además se aplicó balances de materia y de energía a la evaporación y se obtuvo los siguientes rendimientos: en el ensayo PCSE 31,79%, en el ensayo PCCR 49,39%, y en el último ensayo PCCPO 39,67%. La eficiencia del proceso de obtención de PCCR fue superior aunque la eficiencia del proceso con PCCPO fue menor, se obtiene una cantidad mayor de pulpa en comparación con el proceso de obtención PCSE. Por otra parte, se revisó la transferencia de calor durante la concentración de pulpa de arazá al vacío y se encontró menor pérdida de calor en la pulpa PCCR de 1.451 kJ, el mayor coeficiente global de transferencia de calor fue de 19,22 W/m²°C y el menor consumo de energía eléctrica de 5,21 kWh. Los tres procesos de concentración mostraron eficiencia alta en la operación de evaporación pues la economía de vapor fue de 0,9. Los balances de materia y de energía de la etapa de evaporación de los tres procesos mostraron una economía de vapor de 0,9 lo que demuestra que hubo eficiencia en esta etapa. La pulpa que mejor comportamiento presentó, fue la tratada con RAPIDASE® C80MAX, ya que tuvo mayor rendimiento, menor tiempo de evaporación, menor pérdida de calor y menor consumo de energía. La pulpa de arazá tratada con enzima obtenida experimentalmente presentó un comportamiento óptimo en la evaporación, puesto que mejora los rendimientos, disminuye las pérdidas de calor, el consumo de energía y el tiempo de proceso, comparándola con la pulpa sin tratamiento enzimático. Los procesos de PCCR y PCCPO presentaron valores de viscosidad menores que el proceso PCSE, observándose así que los coeficientes de transferencia de calor son más altos y el calor transferido en el evaporador es mayor, causando un efecto directo en el aumento de los sólidos solubles en un menor tiempo. Por lo tanto, el mejor rendimiento lo mostró la PCCR (41,54%), seguida de la PCCPO (32,48%), demostrando la efectividad del tratamiento enzimático, puesto que el proceso de menor rendimiento fue el PCSE de 26, 18%.

Caracterización de la pulpa de arazá concentrada al vacío. El tratamiento enzimático permitió obtener pulpa concentrada de menor viscosidad y más fluida a comparación de la pulpa que no fue sometida a tratamiento enzimático, pero las características fisicoquímicas fueron similares y en promedio se obtuvo para las pulpas concentradas al vacío, los siguientes valores: 85% de agua, 15% de sólidos totales, 0,9% de proteína, 0,06% de grasa, 4% de azúcares totales y 0,5% de cenizas.

CONCLUSIONES

El mejor tratamiento enzimático en la pulpa de arazá aplicando la enzima pectinasa obtenida, es empleando una concentración de 50ppm, a una temperatura de incubación de 50°C y tiempo de pectólisis de 120 minutos, con lo que se obtiene una pulpa con viscosidad de 5.908cP y sólidos solubles de 5,2°Brix. En cuanto al tratamiento enzimático entre las enzimas comerciales mostraron que la enzima RAPIDASE® C80MAX con

concentración de 150ppm, a una temperatura de incubación de 50°C y tiempo de pectólisis de 120 minutos tuvo mejor comportamiento, puesto que se obtiene una pulpa con viscosidad de 4.549cP y sólidos solubles de 5,2°Brix, mientras que utilizando PECTINEX® ULTRA SP-L con las mismas condiciones anteriores, se obtiene una pulpa con viscosidad de 4.595cP y sólidos solubles de 4,8°Brix. Esta pulpa de arazá se sometió a concentración al vacío en un evaporador de simple efecto que presentó los siguientes rendimientos: pulpa sin enzima fue de 31,79%, mientras que pulpa tratada con enzima RAPIDASE® C80MAX fue de 49,39% y 39,68% para la pulpa tratada con enzima obtenida; lo que reflejó una influencia directa del tratamiento enzimático en la etapa de evaporación, ya que la pulpa que entra al evaporador tiene una viscosidad menor a la normal, facilitando así la transferencia de calor dentro de equipo y reduciendo la mermas.

En cuanto a los valores de los análisis fisicoquímicos de las tres pulpas de arazá concentradas al vacío mostraron variación con respecto a la pulpa de arazá sin ningún tipo de tratamiento. El tratamiento enzimático realizado a las pulpas de arazá concentradas, no influye en los valores de los análisis fisicoquímicos con respecto a los valores que presentó la pulpa de arazá concentrada sin tratamiento enzimático; la única propiedad que influye es la viscosidad, que presentó valores inferiores a los presentados por la pulpa que no es sometida a tratamiento enzimático.

Los tratamientos enzimáticos en la pulpa de arazá con enzima pectinasa obtenida y con RAPIDASE® C80MAX aumentan el contenido de sólidos solubles en la misma proporción; la pulpa de arazá que es tratada con la enzima pectinasa obtenida mostró una viscosidad alta que la pulpa de arazá que es tratada con RAPIDASE® C80MAX. Esto se ve reflejado en la etapa de evaporación ya que el tiempo de evaporación se incrementa y el rendimiento de la pulpa concentrada con pectinasa obtenida es menor que el de la pulpa concentrada con RAPIDASE® C80MAX. De lo anterior se puede concluir que la pectinasa obtenida tiene un comportamiento deficiente en comparación a la RAPIDASE® C80MAX, pero presentó un comportamiento aceptable con respecto a la pulpa de arazá concentrada que no fue sometida a tratamiento enzimático.

Finalmente, se hizo un análisis sensorial con las pulpas concentradas en elaboración de néctares, y se identificó que los néctares no presentaban diferencias significativas en sus características organolépticas, aunque los néctares preparados con la pulpa de arazá sin concentrar y pulpa de arazá concentrada con RAPIDASE® C80MAX fueron mas preferidos, en comparación con los néctares preparados con la pulpa de arazá concentrada sin enzima y la pulpa de arazá concentrada con enzima obtenida.

BIBLIOGRAFIA

- Argüello, H. 1998. "Como producir e industrializar los frutos de arazá: *Eugenia stipitata*". Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. p: 5
- Bernal, I. 1998. "Análisis de alimentos". Colombia. Academia Colombiana de Ciencias Exactas. pp: 113-125
- Byong, L. 2000. "Fundamentos de biotecnología de los alimentos". España. Editorial Acirbia. pp: 324-325.
- González, J. 2004. "Mecanismos de las enzimas. Curso de Biomoléculas". Universidad del País Vasco. España. [En línea]: <http://www.ehu.es/biomoleculas/ENZ/FNZ1.htm>
- Grebechova, R. et al. 2007. Induction of pectolytic enzymes by submerged fermentations from *Aspergillus niger* and *Aspergillus foetidus* for application in food processing. American Laboratory, 39(10): 30-31
- Grebechova, R. y Prieto, L. 2006. Biosíntesis de las enzimas pectolíticas a partir de hongos *Aspergillus niger* y *Aspergillus foetidus* para aplicación en industria de alimentos. Revista de Investigaciones Universidad De La Salle. Bogotá. 6(2):153-161
- Prieto, L. et al. Kinetics of the pectolytic enzymes endo-polymethyl-galacturonase and pectinesterase from *Aspergillus niger* and *Aspergillus foetidus*. American Biotechnology Laboratory, 25(7): 24-25
- Hernández, M. 2001. "Conservación del fruto de arazá (*Eugenia stipitata* Me Vaugh) durante la poscosecha mediante la aplicación de diferentes técnicas". Tesis de Doctorado en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. p: 9
- Janser, E. 1997. Enzyme applications for tropical fruits and citrus. Processing Fruit 10:383-393
- Nascimento, S. 1999. "Arazá (*Eugenia stipitata*) cultivo y utilización: Manual técnico". Tratado de Cooperación Amazónica. Secretaria Pro Tempore. Venezuela. [En línea]: <http://www.ateca.org.br/publicacao/SPT-TCA-VEN:SN%20arazá.pdf?search=%22arazá%20%2B%20fae%22>.html
- Orrego, C. 2003. "Procesamiento de alimentos". Colombia. Universidad Nacional de Colombia. pp: 280-284.

**APLICACIÓN DE ENZIMA PECTINASA AISLADA DEL HONGO
Aspergillus niger EN EL PROCESO DE CLARIFICACION Y
FERMENTACION DEL MOSTO DE VINO DE UVA *Vitis labrusca*
VARIEDAD ISABELLA PARA LA OBTENCION DE VINO TINTO**

Rincón, Natalia; Prieto, Lena
UNIVERSIDAD DE LA SALLE
FACULTAD DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS
Carrera 5 # 59 A 44. E. mail. lprieto@lasalle.edu.co
BOGOTÁ - COLOMBIA

Palabras claves: biotecnología de alimentos, *Aspergillus niger*, pectinasa, vino tinto, uva Isabella

RESUMEN

En este proyecto se evaluó la producción de vino tinto elaborado a partir de uva Isabella tipo *Vitis labrusca* con adición de una enzima pectinasa aislada en el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad De La Salle, en dos concentraciones de 0,16 y 0,26 g / 5L de mosto. Durante la clarificación y la fermentación del mosto de uva, se realizaron análisis fisicoquímicos que fueron contrastados con el mismo proceso pero con adición de una enzima (pectinasa y celulasa) comercial ULTRAZIM AFP® en concentración de 0,4 g / 5L de mosto, y sin adición de enzimas.

De todos los ensayos se obtuvo vino tinto de 12 °GL finales con 3,4 de pH y 5 °Brix. Además se presentó mayor rendimiento de volumen final de mosto en el ensayo que se le aplicó la enzima comercial ULTRAZIM AFP® del 25% con respecto a los otros ensayos que mostraron más bajos rendimientos. Por otra parte, este ensayo reportó una acidez volátil de 0,0038 g / L de ácido acético.

INTRODUCCION

La utilización de enzimas en la industria alimentaria permite obtener productos de calidad para el consumidor final; por ello, en el campo de la enología se está empleando enzimas para obtener vinos con un alto rendimiento final en volumen y con características organolépticas que conducen a un producto de excelente calidad (Ranking 2000). Las enzimas empleadas en enología varían en función del fin que se persiga, como las glucanasas que se emplean para controlar el β-glucano en la filtración y la clarificación, y las pectinasas para disminuir la viscosidad al hidrolizar las pectinas y así provocar un aumento de rendimiento en zumo después del prensado (Larrea 1983).

Por ello, las enzimas pectinasas se emplean durante la maceración en vinificación de vinos tintos para facilitar la liberación del contenido celular de la baya de uva y así, se obtiene un vino con más color y rico en compuestos fenólicos. La actividad pectolítica degrada la pectina con el fin de clarificar el mosto puesto que permite una mayor salida de color y aromas. La actividad de las enzimas: poligalacturonasa rompe la pectina de bajo grado de mutilación, pectinesterasa rompe los enlaces del grupo metilo de los ácidos glucurónicos esterificados, pectiniliasa rompe las cadenas de pectina de elevado grado de mutilación (Palacios *et al.* 2006).

El uso de enzimas en enología ha experimentado importantes cambios puesto que se están investigando nuevas actividades enzimáticas, como proteasas para conseguir la estabilidad proteica de los vinos, fenol oxidasas para estabilizar el color en vinos blancos, glucosa oxidasa para obtener vinos con bajo contenido en etanol, o las enzimas implicados en la síntesis de ésteres, compuestos de suma importancia en el aroma afrutado de los vinos (Ranking 2000).

Por otro lado, la uva Isabella es un fruto importante en Colombia y en el Departamento del Valle del Cauca se presenta la mayor producción del país. Además muestra las siguientes características: tamaño de 15mm x 11mm con una densidad de 948,05 kg/m³, contiene 78% de agua, 20% de azúcares, 1,5% de ácidos orgánicos, 0,25% de ácidos libres y 0,2% de minerales. En general el fruto está compuesto de 83% de pulpa, 8% de hollejo, 4% de pepas y 5% de raspón (Quintero 1999). La gente la prefiere por su contenido nutricional.

MATERIALES Y METODOS

Inicialmente, se realizó el bioproceso de obtención de la enzima pectinasa aislada según la metodología de Grebechova *et al.* (2007) y Prieto *et al.* (2007), sin la liofilización. Después de tener la enzima en suspensión líquida, se determinó la actividad de la enzima por medio de la medición de la reducción de viscosidad en un viscosímetro de vidrio Cannon. El porcentaje de cambio de viscosidad se calculó de acuerdo con la ecuación de Roboz (Matissek *et al.* 1998).

A continuación se preparó el mosto de uva Isabella tipo *Vitis labrusca* del Departamento del Valle del Cauca (Colombia), con las siguientes operaciones: recepción de 5 cajas de uva Isabella con un contenido de 12,5 kg de fruta cada una; lavado por inmersión en agua con jabón biodegradable en una concentración de 200 ppm en 12 L de agua; despallado para retirar el raspón y así evitar sabor astringente y amargo; un nuevo lavado con agua para retirar residuos de palillo que hallan quedado; macerado que consistió en exprimir y estrujar la uva para obtener jugo; precalentamiento del mosto a una temperatura de 60°C con el fin de inhibir microorganismos presentes y además, ayuda en la fijación del color; prensado sobre un colador de plástico y se hizo una fuerte presión con una cuchara de madera para separar el orujo y las pepas; llenado de recipientes, el mosto se dividió en cuatro ensayos; se continuó con adición de enzima sobre los ensayos, al primero se adicionó una pequeña cantidad de enzima aislada (0,16 g/5 L de mosto), al segundo una mayor cantidad de enzima aislada (0,26 g/5 L de mosto), al tercer ensayo se adicionó una enzima comercial ULTRAZIM AFP®. (0,4 mL/5 L de mosto) y al último ensayo no se realizó ningún tratamiento enzimático, pero en cada uno de los ensayos se empleó la temperatura óptima a la cual cada una de las enzimas empleadas tiene mejor actividad: la enzima comercial a 45°C y la enzima aislada a 35°C, después se dejó actuar la enzima 12 horas y se calentó a 65 °C para inactivarla; adición de levadura marca Uvaferm CK® en la concentración sugerida en la ficha técnica suministrada por la Empresa Coldanzimas Ltda.; adición de azúcar según los grados alcohólicos (GL) deseados en el vino, y se determinó con la siguiente fórmula:

$$\text{Azúcar (g)} = 17 \text{ g (}^\circ \text{GL)} \times \text{Litros}$$

(Amerine 1976) pues 17g de azúcar producen 1° de alcohol, y esta cantidad de azúcar se adicionó durante tres momentos que duró la fermentación; y por último, la fermentación se realizó a temperatura de 19 - 21 °C en 25 días.

Desde que comenzó el proceso de obtención del mosto se hicieron las siguientes pruebas fisicoquímicas para controlar la clarificación y fermentación según la metodología de la AOAC 930 (2005), referente al análisis de vinos: preparación de muestra, determinación del extracto por método directo, determinación del título alcoholimétrico por destilación, determinación de acidez total, determinación de acidez volátil por titulación, determinación de pH por potenciometría, y determinación de azúcares por título Felhing (Delante 1988, Panreac Química 2005).

RESULTADOS

La actividad enzimática de la enzima pectinasa aislada de *Aspergillus niger* fue de 79%, lo cual indicó que se podía utilizar en la aplicación propuesta de Enología (Ranking 2000). Por otra parte, se llegó a finalizar las fermentaciones de los cuatro ensayos hasta obtener vino de 12°GL (corregidos) en promedio; y en último lugar, los resultados de los análisis realizados se valoraron según el Diario Oficial de las Comunidades Europeas (1990, 1994 y 1999) para determinar la calidad del vino tinto obtenido.

Ensayos. El ensayo en el cual se utilizó enzima pectinasa aislada de baja concentración presentó un bajo rendimiento comparado con el ensayo de mayor concentración y de enzima comercial ULTRAZIM AFP®, sin embargo fue mayor al compararlo con el tratamiento en cual no se utilizó ninguna enzima. El ensayo en el cual se utilizó enzima pectinasa de mayor concentración presentó un mejor rendimiento frente al tratamiento enzimático de menor concentración y al tratamiento sin enzima, sin embargo al compararla con la enzima comercial ULTRAZIM AFP®, la enzima aislada tuvo un bajo rendimiento. La enzima comercial presentó el mayor rendimiento de los cuatro ensayos realizados con la mejor actividad enzimática, debido a que esta enzima es una mezcla de enzima pectinasa y enzima celulasa (figura 1).

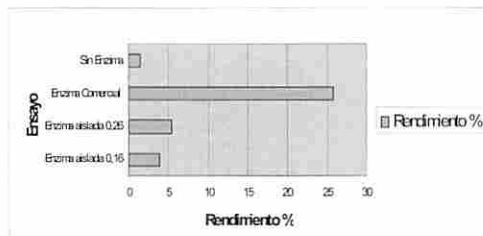


Figura 1. Rendimiento en volumen de vino según cada ensayo

Comportamiento del pH. Esta característica se midió en los días 1, 12, 27 y 35 para conocer el desarrollo del pH durante la fermentación. La aplicación del tratamiento enzimático no afectó esta característica. Según el Diario Oficial de las Comunidades Europeas (1990) el vino debe presentar un pH entre 2,7 y 3,8 pues el vino obtenido presentó un pH inicial de 2,86 y al final de 3,4 lo cual permitió verificar la estabilidad del vino durante la experimentación.

Comportamiento de los °Brix. Se midió en los días 1, 6, 12 y 26 para conocer el desarrollo del comportamiento de los °Brix durante la fermentación y se observó que esta característica no se ve afectada por los tratamientos enzimáticos aplicados. Pues todos iniciaron en 13°Brix y finalizaron en 5°Brix.

Comportamiento de extracto. Al comienzo de la fermentación el mosto presentó un contenido de sólidos suspendidos entre un rango de 5,8 y 6 g/100 mL y durante el tiempo de fermentación éstos sólidos se sedimentaron por gravedad, a medida que se clarificaba el mosto. La mayor variación se presentó durante los primeros 8 días, luego su comportamiento fue constante y similar en los cuatro ensayos. Se encontró que los diferentes tratamientos enzimáticos no afectaron esta característica.

Comportamiento del grado alcohólico (°GL). Presentó una leve variación entre los tratamientos de enzima aislada en mayor concentración y enzima comercial, comparados con el tratamiento que no tenía enzima; el que tenía enzima en menor concentración mostró °GL bajo, ya que este último tardó más tiempo en alcanzar los °GL finales. Al terminar la fermentación el ensayo de menor concentración enzimática presentó 10,8 °GL, el ensayo de mayor concentración y el que tenía enzima comercial presentaron 12,6 °GL mientras que el ensayo que no tenía enzima mostró un grado alcohólico de 11,7 °GL. Los °GL fueron corregidos debido a la diferencia de temperaturas del destilado al momento de realizar las lecturas y la del alcoholímetro de 15°GL. La corrección se realizó según las tablas para corrección de título alcoholométrico Steiner (Larrea

1983). Se observó que la aplicación de tratamiento enzimático no afectó el normal desarrollo de esta característica durante la fermentación (figura 2).

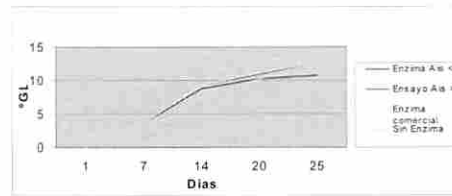


Figura 2. Variación de °GL en los ensayos

Comportamiento de acidez total. El comportamiento de la acidez total durante el tiempo de fermentación fue expresado en el contenido de ácido tartárico y presentó un rango entre 22 y 24 g/L. Los límites del Diario Oficial de las Comunidades Europeas (1994) para vino tinto tranquilo no debe ser inferior a 4,5 g/L. El comportamiento de la acidez total fue similar en los ensayos con enzima pectinasa aislada de mayor concentración y enzima comercial, sin embargo no demostró mayor variación al compararlos con el ensayo de menor concentración y sin enzima.

Comportamiento de acidez volátil. Esta acidez se expresó en g/L de ácido acético y se obtuvo valores altos en los ensayos de enzima comercial ULTRAZIM AFP® y sin enzima, de 0,0038 y 0,0040 g/L de ácido acético respectivamente. En los ensayos de enzima aislada de las dos concentraciones presentó valores menores, 0,0015 y 0,0031 g/L de ácido acético. Según el Diario Oficial de las Comunidades Europeas (1999) los límites legales de acidez volátil para el vino tinto debe ser menor o igual a 1,2 g/L de ácido acético. En los datos anteriores a pesar de presentar variación entre los ensayos todos los valores obtenidos de acidez volátil cumplieron con la normativa (figura 3).

Comportamiento de azúcares totales y reductores. La primera parte de la fermentación el mosto presenta una pequeña cantidad de azúcares reductores (sacarosa), se adiciona una parte del azúcar total para que comience la fermentación, en este punto el contenido de azúcares es mas alto, estos se convierten en alcohol por acción de las levaduras decreciendo su contenido a medida que se produce mayor contenido de alcohol. Según el reglamento CEE 997/81 del 26.01.81 para el tipo de vino seco el contenido de azúcar total debe ser menor o igual a 4 % o menor o igual 9 %. Para el vino final presentó un contenido de azúcar total entre 6 y 8 %.

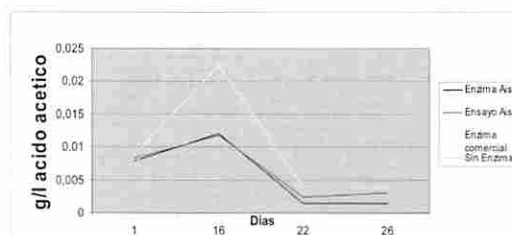


Figura 3. Variación de acidez total en los ensayos

Clarificación final. Al terminar el proceso de fermentación se deben hacer trasiegos que consisten en trasvasar el vino a otro recipiente separando la parte líquida de los sólidos que quedan en el fondo del recipiente. La clarificación más difícil se presentó en el vino de los ensayos con enzima pectinasa aislada con respecto al vino obtenido de los ensayos con la enzima comercial ULTRAZIM AFP®.

En la Foto 1 se muestra el vino tinto del ensayo con enzima aislada en mayor concentración, y el vino tinto del ensayo con enzima comercial, nótese la diferencia en la intensidad de color.

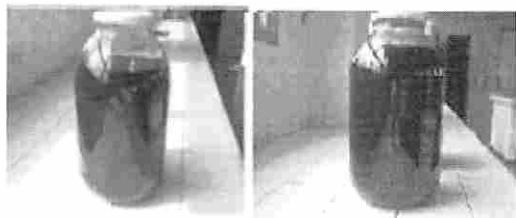


Foto 1. Vino tinto tratado con enzima pectinasa aislada (izquierda) y enzima comercial ULTRAZIM AFP® (derecha)

CONCLUSIONES

No se alteró el normal proceso de fermentación en cada uno de los ensayos según las pruebas analíticas realizadas durante todos los procesos, sin y con los diferentes tratamientos enzimáticos. La enzima comercial ULTRAZIM AFP® presentó una mejor clarificación, mejor volumen final con un rendimiento del 25% y mejor fijación de color con un tono vino tinto oscuro.

El tratamiento en el cual se utilizó una mayor concentración de enzima pectinasa aislada presentó mejor clarificación y rendimiento de 5,35%, comparado con la de menor concentración ya que ésta última presentó un rendimiento del 3,84%. Aunque la enzima comercial ULTRAZIM AFP® tenía una ventaja (tenía actividad celulasa) sobre la enzima pectinasa aislada, ésta última presentó buen rendimiento en volumen, como se mencionó anteriormente, y un vino con características que cumplen la normatividad de vinos tintos utilizando la mayor concentración (Diario Oficial de las Comunidades Europeas, 1999).

Las pruebas con los tres tratamientos enzimáticos; con enzima pectinasa aislada en menor concentración, enzima pectinasa aislada en mayor concentración y enzima comercial ULTRAZIM AFP®, demostraron que la utilización de éstas permitió obtener un buen rendimiento adicional de vino final en comparación con el ensayo en el cual no se adicionó ninguna tipo de enzima ya que éste último presentó el menor rendimiento un 1,32 %.

AGRADECIMIENTOS

A Luz Myriam Moncada por sus asesorías, a Jaime Plazas por su asesoría comercial de la Empresa Coldanzimas Ltda. , a Juan Calderón por su asesoría del Servicio Nacional de Aprendizaje, y a la Universidad De La Salle por sus laboratorios para el desarrollo de este proyecto.

BIBLIOGRAFIA

- Amerine, M. y Ough C. 1976. "Análisis de vinos y mostos". España. Editorial Acribia. p: 23-39
- AOAC Internacional. 2005. "Análisis para vinos método 930". USA. p: 567-575
- Delanoe, D. et al. 1988. "El Vino del análisis a la elaboración". Argentina. Editorial Hemisferio. p: 3-85
- Diario Oficial de las Comunidades Europeas. 1981. "Reglamento (CEE) 997: métodos de análisis comunitarios aplicables en el sector del vino". España. p: 84-92
- Diario Oficial de las Comunidades Europeas. 1990. "Reglamento (CEE) 2676: métodos de análisis comunitarios aplicables en el sector del vino". España. p: 121-122
- Diario Oficial de las Comunidades Europeas. 1994. "Reglamento (CEE) 557: métodos de análisis comunitarios aplicables en el sector del vino". España. p: 139-142
- Diario Oficial de las Comunidades Europeas. 1999. "Reglamento (CEE) 14933: métodos de análisis comunitarios aplicables en el sector del vino". España. p: 127-132
- Grebechova, R et al. 2007. "Induction of pectolytic enzymes by submerged fermentations from *Aspergillus niger* and *Aspergillus foetidus* strains for application in food processing." American Laboratory, 39(10): pp. 30-31.
- Larrea, A. 1983. "Enología básica". España. Editorial Aedos. p: 67-89
- Matissek, R. et al. 1998. Análisis de los alimentos: fundamentos, métodos y aplicaciones. España. Editorial Acribia. p: 225
- Palacios, A. et al. 2006. "Utilización de enzimas de maceración en vinificación de vino tinto". Universidad de La Rioja. España. 8p.
- [En línea]: <http://www.haro.es/ingles/pdf/cursoharoantonio.pdf>
- Panreac Química. 2005. "Técnicas usuales de análisis en Enología". España. 55p
- Prieto, L. et al. Kinetics of the pectolytic enzymes endopolymethyl-galacturonase and pectinesterase from *Aspergillus niger* and *Aspergillus foetidus*. American Biotechnology Laboratory. 25(7): 24-25
- Quintero, E. 1999. "Caracterización del zumo de uva variedad Isabella Tipo *Vitis labrusca* cultivada en Colombia para la industria vinícola". Tesis de Ingeniería de Alimentos. Universidad De La Salle. Colombia. 84p.
- Rankine, B. 2000. "Manual práctico de Enología". España. Editorial Acribia. p: 42-178

DETERMINACIÓN DE LA CINÉTICA DE FERMENTACIÓN EN LA ELABORACIÓN DE PICKLES Y SAUERKRAUT, USANDO CULTIVOS INICIADORES DE BACTERIAS LÁCTICAS

Jorge Iván Quintero Saavedra, Cristina Ramírez T.
Universidad del Valle - Escuela de Ingeniería de Alimentos
Calle 13 # 100 – 00. Cali - Colombia

Palabras claves: Cinética de fermentación, Pickles, Sauerkraut, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum*.

RESUMEN

En el presente estudio se determina la cinética de fermentación de diferentes vegetales en procesos tradicionales como lo son la elaboración de Sauerkraut y pickles. Las cinéticas de fermentación muestran que el equilibrio durante la etapa de fermentación se alcanza en tres días controlando la inoculación tanto en volumen como en la microflora utilizada (*Leuconostoc mesenteroides* ATCC10880, *Lactobacillus plantarum* ABBL A6), dando como resultados productos de excelente calidad tanto nutricional como organoléptica, en un periodo muy corto comparado con los procesos tradicionales.

INTRODUCCIÓN

En el mundo el estudio de las fermentaciones que dan origen a alimentos fermentados, data desde el siglo pasado y los procesos han logrado ser estandarizados e industrializados para asegurar la producción de productos alimenticios nutritivos y seguros. El yogurt, quesos, vegetales carnes rojas y pescados son algunos de estos ejemplos donde las fermentaciones se dan generalmente por la presencia de bacterias ácido lácticas y concentraciones de sal que van desde 0,7% hasta 5 ó 7% dependiendo del producto o la región donde se consume (Lee, 1997).

De los productos más comunes son tal vez, los vegetales fermentados que van desde las conocidas aceitunas hasta el Dakguadong o el Burong Mustala de Tailandia y Filipinas respectivamente. Los principales organismos implicados en las diferentes fermentaciones son en general las bacterias ácido lácticas, especialmente del los géneros *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* en la tabla 1 muestra algunos ejemplos de productos fermentados y los microorganismos implicados en el proceso (Lee, 1994).

Tabla 1 Ejemplos de vegetales fermentados en diferentes regiones del mundo

Producto	País	Sustrato	Flora
Sauerkraut	Alemania	Repollo, sal	<i>L. mesenteroides</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. plantarum</i>
Kimchi	Korea	Repollo, vegetales varios, sal	<i>L. mesenteroides</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. plantarum</i>
Dharmsoi	Vietnam	Repollo, vegetales varios	<i>L. mesenteroides</i> , <i>L. plantarum</i>
Dakguadong	Tailandia	Hojas de mostaza, sal	<i>L. plantarum</i>
Burong Mustala	Filipinas	mostaza	<i>L. brevis</i> , <i>P. cerevisiae</i>

Para la mayoría de estos productos las fermentaciones se llevan a cabo por los microorganismos presentes como parte de la flora normal o nativa la cual varía en función de la calidad del material crudo, la temperatura y las condiciones de cosecha por lo que se ha dado origen a gran cantidad de productos partiendo de materiales similares. La fermentación espontánea conduce a cambios en las propiedades sensoriales de los productos, por lo anterior se han diseñado cultivos iniciadores de la fermentación que permitan estandarizar la fermentación mediante el control de la flora microbiana (Font de Valdez et al, 1990). De este modo, estudios en la evaluación de y desarrollo de bacterias ácido lácticas inoculadas para el rápido y controlado inicio de la fermentación de vegetales son cada vez más importantes.

La selección de las cepas de los cultivos iniciadores debe ser hecha basados principalmente en las interacciones de estos con la flora nativa, además, de las características y/o propiedades sensoriales de los productos resultantes (Gardner et al, 2001).

La producción de los vegetales fermentados requiere típicamente una secuencia de procesos microbianos que involucran fermentaciones tanto hetero como homofermentativas. Inicialmente se involucran especies de

Leuconostoc y especies de *Lactobacillus* y/o *Pediococcus* para la segunda fase (Font de Vadez et al, 1990).

El *Leuconostoc* aprovecha la glucosa y la fructosa para su crecimiento dando como resultado la producción de ácidos orgánicos principalmente los ácidos láctico y acético, además de, etanol, manitol y CO₂. Como consecuencia el pH del medio disminuye y se inicia la segunda fase que se caracteriza por ser anaeróbica, está acompañada de un descenso del pH hasta valores de 3,8 a 3,5.

Aunque diversos estudios se han realizado en repollo, aceitunas, y pepinillos (Hubert and Dupuy, 1994), poco se conoce sobre la fermentación de zanahorias, ajos y demás vegetales.

El objetivo del presente estudio fue determinar la cinética de la fermentación láctica de repollo y mezcla de vegetales con cepas comerciales y evaluar su comportamiento para la obtención de encurtidos usando verduras fermentadas como materia prima.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepas bacterianas

Cepas purificadas de *Leuconostoc mesenteroides* y de *Lactobacillus plantarum* fueron usadas para las fermentaciones tanto de repollo como de la mezcla de verduras. Aunque no hay literatura sobre las cepas que deben ser usadas para la fermentación de la mezcla de vegetales serán usadas las mismas que para el repollo.

Las cepas inicialmente fueron criopreservadas a -10°C, en caldo MRS usando 25% (wt%) de Glicerol como criopreservante, posteriormente fueron reactivadas usando 1 ml de cepas crioconcentradas y 9 ml de MRS con pH entre 5,5 – 5,7. La incubación se llevó a cabo por 36 a 48 horas a 35±2 °C. Posteriormente se verificó pureza mediante el método de GRAM, además se verificó la morfología a través de microscopía. Las cepas fueron repicadas 2 veces manteniendo las condiciones de incubación para reactivar por completo el metabolismo celular.

Inóculo

Para el inóculo se usó leche en polvo descremada y rehidratada al 10% (wt%). 180 ml de leche rehidratada fueron inoculados con 20 ml de caldo MRS conteniendo las cepas mencionadas previamente incubadas 24 horas. El inóculo fue incubado a 35±2 °C, de la misma forma que las cepas. Al finalizar la incubación se verificó la pureza mediante el método de GRAM.

Material Crudo

Se usó repollo y para la mezcla de verduras fueron usados Zanahorias, Habichuelas, Brócoli, Coliflor, Apio y Pimentón. Las verduras fueron conseguidas en el mercado local y almacenadas a 4 °C hasta el procesamiento. Las verduras fueron cuidadosamente seleccionadas teniendo en cuenta su madurez, aspecto y calidad general para evitar daños innecesarios durante la elaboración del producto, posteriormente fueron lavadas y escaldadas con agua caliente (95°C y 3 – 4 min). El repollo fue picado en tiras < 0,5 cm de ancho y menores a 5 cm de largo, las nervaduras más gruesas presentes en las hojas fueron desechadas. Las verduras exceptuando las habichuelas (solo se les retiraron las puntas) fueron reducidos de tamaño reducidos a tiras intentando mantener las dimensiones de las habichuelas para dar un producto de calidad homogénea sin trozos demasiado grandes que precisen de mayor tiempo de almacenamiento para ser procesados.

Fermentación ácido láctica de los vegetales

Repollo: Al repollo le fue adicionado el 4% (wt) de sal y fue mezclado manualmente hasta que la sal se deshizo, posteriormente se le adicionó inóculo suficiente para

humedecer toda la masa de repollo salado, el inóculo se mantuvo por 10 minutos, al final de los cuales se retiro de manera mecánica por tamizado y presión. Durante el proceso de fermentación el repollo es prensado y mantenido sin aire en la superficie usando para ello una columna de 200 mmH2O (2 KPa).

Verduras: Las verduras escaldadas y picadas se les adiciona salmuera al 10% (wt%) en cantidad suficiente para que floten dentro del recipiente de plástico donde se lleva a cabo la fermentación. El inóculo adicionado corresponde al 10% (wt%) del total de salmuera. Al igual que el repollo, las verduras se mantienen sin aire en la superficie para evitar la proliferación de microorganismos aerobios usando una columna de 200mmH2O (2 KPa).

Los inóculos tuvieron poblaciones de $1,0 \cdot 10^8$ UFC/ml para el repollo y $2,8 \cdot 10^8$ UFC/ml para las verduras. Los fermentadores serán mantenidos alejados de la luz del sol y a la temperatura ambiente de la ciudad de Cali (aproximadamente 28°C).

Análisis de las muestras.

Las muestras serán recolectadas durante 17 días. Para el repollo se tomó 1 gramo de la muestra y fue diluido en 9 ml de agua peptonada al 0,1%, para las verduras se analizó la salmuera directamente. A las muestras se les realizaron la determinación de la población por conteo en placa con agar, determinación de azúcares totales por el método de ANTRONA (Dubois, et al, 1956), pH por potenciómetro, proteínas por el método de LOWRY (Hartree, 1972). Adicionalmente al obtener las cinéticas de crecimiento de microorganismos se determinaron los parámetros: velocidad de crecimiento específico (μ), Tasa específica de utilización de sustrato (q_s , gramos de sustrato consumido por cada gramo de células por hora de proceso), rendimiento en la producción de biomasa (Y , gramos de células formadas por gramo de sustrato consumido). (Amaris, 1995)

$$\mu = \frac{1}{X} * \frac{dX}{dt} \quad Y = - \frac{\Delta X}{\Delta S} \quad q_s = \frac{1}{X} * \frac{dS}{dt}$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 2 se muestran los resultados para proteína usando el método de Lowry donde la curva de calibración exhibe una ecuación lineal, tal que: $D.O = 0,0025[g/l] + 0,08211$. En la tabla 3, de forma análoga se muestra el comportamiento de los azúcares totales durante el proceso, la relación entre la densidad óptica y la concentración se expresa como:

$$D.O = 0,0131[g/l] + 0,1277$$

Tabla 2. Cambio en la concentración de proteínas durante la fermentación del repollo

Días	PROTEÍNAS		
	D.O.	[]	g/l
0	0,184	40,756	0,20378
2	0,174	36,756	0,18378
3	0,152	27,956	0,13978
5	0,106	9,556	0,04778
10	0,086	1,556	0,00778
17	-	-	-

Tabla 3. Cambio en la concentración de azúcares totales durante la fermentación del repollo

Días	AZÚCARES		
	D.O.	[]	g/l
0	0,179	3,91603053	3,91603053
2	0,447	24,3740458	2,43740458
3	0,464	25,6717557	2,56717557
5	0,362	17,8854962	1,78854962
10	0,210	6,28244275	0,62824427
17	-	-	-

En la tabla 4, se parecían los valores de pH a través de la fermentación al igual que el conteo de células viables. Los datos de μ fueron tomados entre los intervalos de tiempo y de esta manera se determinó su valor que por definición es el más

alto cuando se compara la población de microorganismos en función del tiempo. Los valores de q_s y Y se determinan teniendo en cuenta el μ_{max} .

Tabla 4. pH , Células viables, y parámetros cinéticos durante la de fermentación del repollo.

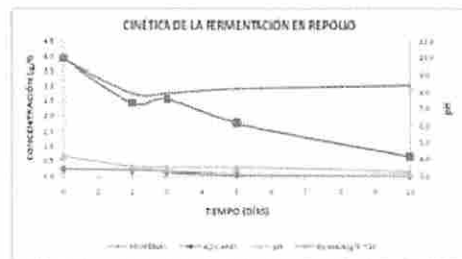
Días	pH	Conteo [g/l]	(/h)	q_s (g/gc.h)	Y (gc/gs)
0	4,17	9,9			
2	3,55	7,9	-0,042		
3	3,48	7,9	0,000		
5	3,48	8,2	0,006	0,020	0,039
10	3,21	8,4	0,002		
17	2,82	8,4	0,000		

La Grafica 1 muestra la relación entre las variables medidas en el proceso, permitiendo visualizar de una forma más clara la cinética de fermentación como tal.

En las tablas 5, 6 y 7 se muestras de manera semejante las variables medidas y los parámetros calculados durante la fermentación de las verduras.

Tabla 5. Cambio en la concentración de proteínas durante la fermentación de verduras

Días	PROTEÍNAS		
	D.O.	[]	g/l
0	0,284	80,756	0,40378
2	0,442	143,956	0,71978
3	0,306	89,556	0,44778
5	0,310	91,156	0,45578
10	0,373	116,356	0,58178
17	0,329	98,756	0,49378



Grafía 1. Resultados de comportamiento de Azúcares totales, Proteína, Células viables y pH en el proceso de fermentación de repollo.

Tabla 6. Cambio en la concentración de azúcares totales durante la fermentación de verduras

Días	AZÚCARES		
	D.O.	[]	g/l
0	0,165	2,847	2,847
2	0,475	26,511	2,651
3	0,425	22,695	2,269
5	0,410	21,550	2,155
10	0,362	17,885	1,789
17	0,262	10,252	1,025

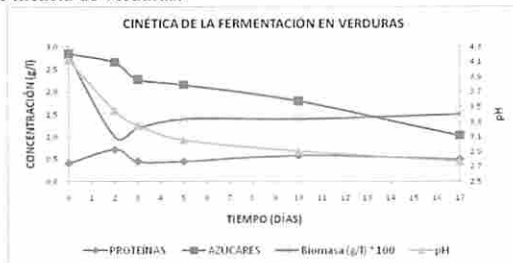
En la gráfica 1 se observa que durante los primeros 2 días de fermentación en el repollo hay una disminución de la casi todos los parámetros exceptuando la proteína, aunque el pH descendiendo, este descenso no es muy marcado comparado con la disminución en la biomasa y en la concentración de azúcares, lo que permite identificar un periodo de adaptación por parte de las células a las nuevas condiciones de cultivo. Este nueve cultivo tiene una concentración de sal superior a la de la leche que fue usada en los inóculos, además, la cantidad de agua disponible es bastante menor, pues el sustrato aunque posee un elevado contenido de agua ($\approx 87\%$), está dentro de una matriz sólida, haciendo que esta fermentación no tenga las características principales de una fermentación sumergida, sino

por el contrario posee características de una fermentación sólida.

Tabla 7. pH, Células viables, y parámetros cinéticos durante la fermentación de verduras.

Días	pH	Conteos (/h)	μ_s (g/gc.h)	qs (g/gc.h)	Y (gc/gs)
0	4,12	2,8			
2	3,45	1,0	-0,038		
3	3,25	1,2	0,008		
5	3,06	1,4	0,004	0,018	0,175
10	2,91	1,4	0,000		
17	2,77	1,5	0,001		

La gráfica 2, permite observar la relación entre los azúcares totales, proteína y células viables y pH durante la fermentación de mezcla de verduras.



Gráfica 2. Resultados de comportamiento de Azúcares totales, Proteína, Células viables y pH en el proceso de fermentación de repollo.

Después del tercer día las curvas tienen el comportamiento esperado, o sea, que la población aumenta a expensas del consumo de sustrato, aunque no con la proporción esperada y esto se puede deber a que la mayor parte del energía por parte de la célula es usada para el mantenimiento y no para el crecimiento como normalmente sucede AIBA, 1973. La proteína, aunque no está presente en una concentración significativa disminuye a lo largo del proceso, lo que se puede asociar a que las bacterias lácticas usadas tienen la capacidad de aprovechar este tipo de fuentes de nitrógeno como lo menciona Aquarone, 1983. En general para el proceso de fermentación de repollo para obtención de sauerkraut usando *Leuconostoc mesenteroides* y *Lactobacillus plantarum* los azúcares son usados alrededor de un 84% en 10 días de fermentación, pero el 37% es consumido en los primeros 3 días de fermentación. Como se mencionó inicialmente el equilibrio para las células con el sustrato parece alcanzarse a los tres días, lo cual es consecuente con la literatura (Gardner et al, 2001; Aquarone, 1983), donde se menciona que esto puede ocurrir al cuarto día cuando se controla la flora mediante la aplicación de cultivos estériles.

En la gráfica 2, Los parámetros exhiben un comportamiento similar a la gráfica 1. Los azúcares disminuyen a lo largo del proceso casi que de manera constante, al igual que el pH. La población de microorganismos tiende a disminuir al inicio (2 primeros días) como el repollo, después la población aumenta pero en menor proporción lo que es evidente al comparar las velocidades específicas de crecimiento (μ_{max}) para el repollo es de 0,006, mientras que en las verduras es de 0,004. Aunque los valores de μ_{max} son muy pequeños las diferencias se hacen evidentes, es más claro si vemos los tiempos de duplicación definidos en función de μ_{max} como:

$$t_d = \frac{\ln 2}{\mu_{max}}$$

$t_{d, \text{repollo}} = 115 \text{ horas}$

$t_{d, \text{verduras}} = 173 \text{ horas}$

Las diferencias están alrededor de 35%, lo que aparentemente es grande, pero permite obtener un producto final de excelentes características, además si se tiene en cuenta lo propuesto por Gardner et al, 2001, que los inóculos para producción de sauerkraut no muestran buenos resultados con verduras diferentes, es posible replantear esta propuesta basados en estos resultados que si bien no son tan buenos como en el repollo la adaptación es muy buena teniendo en cuenta la alta concentración de sal presente en la salmuera (10%).

De acuerdo con la tasa específica de utilización de sustrato se tiene para el repollo 0,020 y para las verduras 0,018 siendo muy parecidos los requerimientos en nutrientes de las cepas en ambos procesos. Y para el rendimiento en la producción de biomasa (Y) observamos una diferencia significativa entre el repollo 0,039 y las verduras 0,175 lo cual se explica debido a que la caída de la población al inicio de la fermentación de las verduras es mucho mayor que la caída en el proceso de fermentación de repollo, las células en el proceso de las verduras den ser repuestas en el proceso, mientras que el proceso de repollo la población comparativamente parece mantenerse. También se puede observar de la comparación de las gráficas 1 y 2 que aunque los pH iniciales de los procesos son casi iguales las verduras acidifican más rápido que el repollo aunque la velocidad de crecimiento de las cepas es menor en las verduras, la razón se puede encontrar en la cantidad de agua disponible que tienen las cepas en el proceso de las verduras en comparación con el proceso del repollo. Sin embargo hacia el final del proceso los pH vuelven a ser casi iguales y coincide con el pH mínimo al cual se pueden mantener las bacterias lácticas usadas que de 3,0 (Betancourt & Quintero, 2001).

Tanto las verduras como el repollo al iniciar el proceso debido a la producción de CO₂ por parte del *Leuconostoc*, se convierten en sistemas anaerobios que junto con el rápido descenso del pH convierten los fermentadores en sistemas donde los microorganismos aerobios causante de problemas en la calidad y seguridad de los alimentos no pueden desarrollarse, convirtiendo las fermentaciones en sistemas autoestables, que aseguran la calidad y las buenas condiciones del producto final.

CONCLUSIONES

Las cepas de *Leuconostoc mesenteroides* y *Lactobacillus plantarum* son capaces de aprovechar los azúcares presentes en los sustratos vegetales usados durante el experimento.

Como se referencia en la literatura, las fermentaciones tanto del repollo como de las verduras alcanzan un equilibrio aparente en los primeros tres días del proceso, mucho más rápido que los procesos artesanales sin cultivos estériles, los cuales pueden tardar más días o incluso meses.

Las condiciones físicas de las fermentaciones como las temperaturas de almacenamiento influyen directamente en la calidad final del producto así como en la velocidad del proceso. La contaminación microbiológica medio ambiental puede ser controlada por las cepas durante la fermentación, pero durante el almacenamiento dicha contaminación puede causar daños irreparables al producto.

Las cepas usadas para la elaboración de sauerkraut pueden ser usadas para la eficiente fermentación de verduras como la zanahoria, brócoli, coliflor, apio, habichuelas.

Los productos presentan excelentes características organolépticas debido a que las condiciones de las fermentaciones como la anaerobiosis ayudan a la fijación del color y a mantener las características nutricionales propias de cada tipo de verduras.

REFERENCIAS

- Lee Cheri-Ho. (1997). "Lactic acid fermented foods and their benefits in Asia". Food Control 1997 Volume 6 Number 5/6
- Lee, C. H., Adler-Nissen, J. and Barwald, G. (1994) *Lactic Acid Fermentation of Non-daily Food and Beverages*. Harn Lim Won, Seoul
- Gardner Nancy J., Savard Tony, Paule Obermeier, Gary Caldwell, Claude P. Champagne. (2001). "Selection and characterization of mixed starter cultures for lactic acid fermentation of carrot, cabbage, beet and onion vegetable mixtures. *International Journal of Food Microbiology* 64 (2001) 261-275
- Font de Valdez, G., de Giori, G.S., Garro, M., Mozzì, F., Oliver, provided the bacterial strains. This work was partly G., 1990. Lactic acid bacteria from naturally fermented vegetated by the "Agri-Food R&D Matching Invest-ables. *Microbiol.-Alim.-Nutt.* 8, 175-179.
- Hubert, J.C., Dupuy, P., 1994. Conservation des fruits et des légumes. In: de Roissart, H., Luquet, F.M. (Eds.). *Bactéries Lactiques*, Vol. 2. Loriga, Uriage, pp. 233-243.
- DUBOIS, M., HAMILTON, J. K., REBERS, P. A., SMITH, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *ANAL. CHEM.* 28: 350-356
- HARTREE, E. F. (1972). A modification of the lovry method that gives a linear photometric response. *Analytical Biochemistry*, 48, pp: 422-427.
- AIBA S., HUMPHREY A., MILLIS N. (1973). "Biochemical Engineering", 2ª ed. University of Tokyo Press. Japón.
- Aquarone E., Almeida Lima U., Borzani W. (1983). "Alimentos e bebidas produzidos por fermentação". ed. Edgar Blücher, Sao Paulo, Brasil.
- Betancourt S., Quintero J. (2001). "Diseño Preliminar del Proceso de Producción de bacterias Ácido Lácticas Productoras de Biocinas y Ácido Láctico para la Preservación y Conservación de Carnicos Marinos.
- Amaris Roberto. (1995). "BIOQUÍMICA BÁSICA". Universidad de Antioquia.

EVALUACIÓN DE CINÉTICAS DE CRECIMIENTO EN FUNCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN INICIAL DE GLUCOSA Y TIEMPO DE INDUCCIÓN EN LA PRODUCCIÓN DE ENZIMAS LIPOLÍTICAS A PARTIR DE UNA BACTERIA AISLADA DEL FRUTO DE PALMA AFRICANA (*Elaeis guineensis*)

Uscátegui, Yomaira; Suárez, Camilo*; Jiménez, Carlos; Prieto, Erlide

*casuarezme@unal.edu.co

UNIVERSIDAD DE LA SABANA

FACULTAD DE INGENIERÍA

INGENIERÍA DE PRODUCCIÓN AGROINDUSTRIAL

Km 21, Autopista Norte de Bogotá

CHÍA, CUNDINAMARCA, COLOMBIA

Palabras claves: biotecnología alimentaria, enzimas, microorganismos, actividad lipolítica, ácidos grasos, hidrólisis.

RESUMEN

Este proyecto se desarrollo con microorganismos gram negativos con presencia de actividad lipolítica aislados del fruto de palma africana por Peña (2005) e identificados como *Pseudomonas aeruginosa*.

Se realizaron fermentaciones de esta cepa para estudiar la producción de lipasas utilizando glucosa como fuente de carbono y energía en diferentes concentraciones (3, 5, 10, 15 y 20 g/L), y aceite de palma como inductor para la producción de estas enzimas. Se determinaron los parámetros cinéticos de la reacción con diferentes niveles de concentración inicial del sustrato encontrando que a menores concentraciones de éste los rendimientos de sustrato en biomasa resultan ser mayores.

Tomando como nivel de trabajo una concentración inicial de glucosa de 3 g/L y a partir de las cinéticas de crecimiento se establecieron tres tiempos diferentes para la inducción de la enzima, para lo cual se utilizó como inductor aceite de palma, tween 20 y una emulsión de aceite de palma con tween 20 en ensayos separados. La actividad lipolítica fue evaluada para todos los ensayos con p-nitrofenil palmitato (PNPP) a una temperatura de 37°C por 15 minutos. Los productos de la reacción se determinaron espectrofotométricamente a 410 nm. Se calculó como la liberación de μmol de p-nitrofenol (PNP) por minuto La actividad lipolítica favorable se logró cuando la inducción se realizó con la emulsión a las 11 horas de fermentación, logrando un valor máximo de 57.07 μM de PNP. Se realizo un estudio preliminar de la hidrólisis enzimática para el inductor que presentaba el valor más alto de actividad lipolítica. Se determinó que la hidrólisis de 100 μM de PNP se obtiene a los 300 minutos de reacción con PNPP adicionando el inductor (emulsión) al medio a las 11 horas de fermentación.

INTRODUCCIÓN

El énfasis gubernamental en el crecimiento masivo del cultivo de palma de aceite en Colombia tiene dos motivaciones principales: primero, la generación de empleo en muchas áreas rurales, para contribuir a solventar su situación de pobreza y desempleo; y segundo, aliviar la presión energética del país y asegurar la disponibilidad de otras fuentes en el futuro. Debido a que el aceite de palma representa un potencial para la producción de combustibles renovables alternativos como por ejemplo el Biodiesel, el Gobierno Nacional ha puesto su atención en promover el crecimiento del área cultivada en palma de aceite (Palmas, 2004).

De la misma forma se debe tener en cuenta otros usos industriales para incentivar el consumo doméstico, como el tradicional mercado de aceites y grasas comestibles, jabonería, y oleoquímica básica. Es así como la industria oleoquímica se encuentra en un estado incipiente. La demanda de productos oleoquímicos por parte de la industria (alimentos, farmacéutica, química, cosméticos, jabones y detergentes), se satisface mediante las importaciones de productos oleoquímicos intermedios que se transforman localmente (Cenipalma, 2006).

De esta forma aislar enzimas del fruto de palma y utilizarlas en procesos oleoquímicos es un aporte favorable para la economía nacional.

Las lipasas son enzimas con actividad lipolítica, clasificadas como éster hidrolasas carboxílicas (EC. 3.1.1.3) que rompen los enlaces éster de los acilglicéridos mediante la adición de una molécula de agua, dando lugar a ácidos grasos libres y glicerol. Las lipasas son enzimas muy versátiles e interesantes en el campo de la biotecnología, ya que pueden catalizar reacciones de hidrólisis de un amplio rango de lípidos. En solventes orgánicos, realizan reacciones de síntesis o de intercambio de grupos (transesterificación e interesterificación) entre diferentes moléculas, incluyendo lípidos, glúcidos y aminoácidos. (Serrano, 2001)

Las aplicaciones de las lipasas son múltiples y variadas. Originalmente se han utilizado para la hidrólisis de grasas y aceites, aunque también son capaces de llevar a cabo el proceso inverso, es decir, sintetizar enlaces éster. Debido a su estereoespecificidad, el potencial biotecnológico de las lipasas es enorme y despiertan un elevado interés para la industria alimentaria, química, farmacéutica, agrícola, clínica o cosmética, entre otros muchos sectores. (Serrano, 2001)

Algunas bacterias producen y excretan lipasas, que pueden catalizar la hidrólisis y la síntesis de acilglicérol de cadena larga, los cuales pueden ser producidos con una elevada regioselectividad y enantioselectividad (Ngom, 2000) La producción de enzimas lipolíticas microbianas se ve influenciada por factores nutricionales y físico-químicos, es así como se encuentran varios estudios para determinar las condiciones óptimas de producción de las enzimas para los diferentes tipos de microorganismos (Gupta y col., 2004). En le referente a las fuentes de carbono se han utilizado aceites vegetales como soya, maíz, oliva, girasol, etc. en diferentes concentraciones, al igual que polisacáridos no metabolizables, carbohidratos, etc. (Gupta y col., 2004; Jaeger y col., 1994; Sharma y col., 2001; Winkler y Stuckmann, 1979). En cuanto a las fuentes de nitrógeno también existe una gran variedad, entre las más utilizadas se encuentran la peptona, el extracto de levadura, el licor de maíz, sulfato de amonio, nitrato de amonio, etc. al igual que en el caso anterior en diferentes concentraciones y combinaciones. (Gupta y col., 2004; Sharma y col., 2001).

La presencia de lípidos en el medio de cultivo, como mantequilla, aceite de oliva, aceite de canola, aceite de pescado, etc., pueden influenciar la producción y actividad de lipasas de los microorganismos. Generalmente, la actividad de lipasas intra y extracelulares incrementa con la concentración de lípidos, pero niveles elevados de estos en los medios pueden resultar tóxicos. (Ngom, 2000)

En este estudio se evaluará la cinética de crecimiento y tres tiempos de inducción en la producción de enzimas lipolíticas obtenidas mediante una bacteria aislada previamente de frutos de palma Africana en los laboratorios de la Universidad de la Sabana (Chía).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajo con microorganismos gram negativos con presencia de actividad lipolítica aislados del fruto de palma africana por Peña (2005) e identificados como *Pseudomonas aeruginosa*. Se realizaron fermentaciones de esta cepa para estudiar la producción de lipasas utilizando glucosa como fuente de carbono y energía y aceite de palma como inductor para la producción de estas enzimas. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

Los medios de fermentación se prepararon utilizando diferentes concentraciones en la fuente de carbono (3, 5, 10, 15 y 20 g/L de glucosa) con la misma composición que referencia Morales y Muñoz (2005) modificado a nivel de sustrato. La biomasa producida en la reacción se determinó por el método de peso seco y las cinéticas de crecimiento de la bacteria se determinaron durante 24 horas.

Como agentes inductores de la enzima lipolítica se utilizaron en ensayos separados aceite de palma, tween 20 y una emulsión de aceite de palma con tween 20 en una relación 4,8:1 (aceite:emulsión) en volumen. Todos fueron adicionados a los medios de fermentación en una concentración de 0.3% (p/v) y en tres tiempos de inducción determinados a partir de la cinética de crecimiento, correspondientes a la etapa inicial de fermentación (0 h), fase exponencial (11 h) y fase estacionaria (18 h).

Se determinó la actividad enzimática mediante un método espectrofotométrico con base en la hidrólisis de p-nitrofenil palmitato, el grado de actividad hidrolítica es medido por la intensidad de color amarillo del p-nitrofenol liberado por la hidrólisis a 410 nm. (Ngom, 2000). Se utilizó p-nitrofenil palmitato como sustrato en una concentración de 100 µM y la reacción se realizó a 37°C, 100 rpm por 15 minutos.

Se estudio la hidrólisis enzimática para el inductor que presentaba el valor más alto de actividad enzimática, adicionando dicho inductor al medio a las 0, 11 y 18 horas de fermentación. La reacción con PNPP se llevo a cabo durante 300 minutos (0, 7, 15, 30, 60, 120 y 300 minutos), 37°C, 100 rpm, la liberación de PNP se determinó a 410 nm.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se representan los resultados de las cinéticas de crecimiento de la bacteria *P. aeruginosa* utilizando diferentes concentraciones de glucosa como única fuente de carbono.

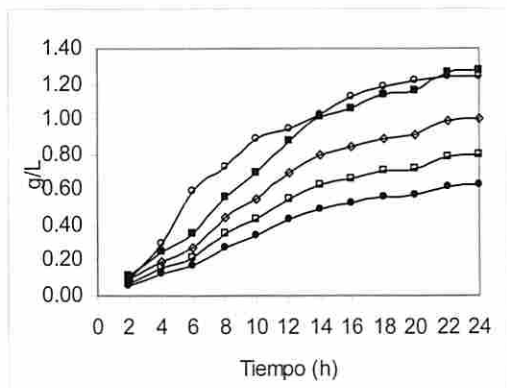


Figura 1. Cinéticas de crecimiento de *P. aeruginosa* creciendo en diferentes concentraciones de glucosa. (○) 3 g/L, (■) 5 g/L, (●) 10 g/L, (□) 15 g/L y (◇) 20 g/L

En las cinéticas de crecimiento se observa que se presenta inhibición cuando la concentración de glucosa es mayor. Utilizando una concentración de 3 g/L se tiene un rendimiento máximo biomasa sustrato de 41.91% y el valor mínimo se presenta con una concentración de 10 g/L con un valor de 1.11%.

Con las condiciones de crecimiento que presentaron los rendimientos más altos, se establecieron los parámetros cinéticos de crecimiento de la bacteria al emplear 3 y 5 g/L de glucosa en el medio para los cuales las velocidades específicas de crecimiento fueron 0.0337 h⁻¹ y 0.0329 h⁻¹ respectivamente.

En la figura 2 se representan los resultados sobre la hidrólisis de PNPP cuando se utiliza agentes inductores en el medio de fermentación en diferentes tiempos.

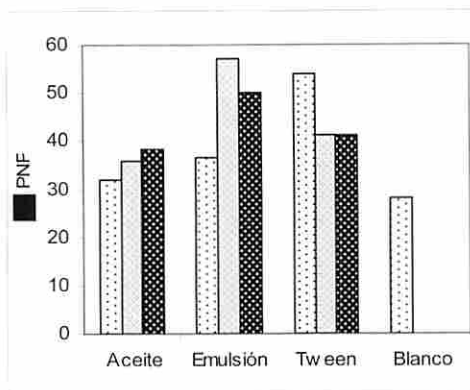


Figura 2. Cinética enzimática luego de 15 minutos de reacción de PNPP. Adición del inductor a las □ 0 horas, □ 11 horas y ■ 18 horas de la fermentación.

En la figura 2 se observa que todos los medios que contienen inductor presentan valores superiores a 28.13 µM de PNP que es el valor correspondiente al medio que no contiene inductor (blanco), es decir, la adición de un inductor al medio de fermentación libera mayor cantidad de enzima. La adición de inductores en menores concentraciones presenta resultados positivos como se observa en la adición de polisacáridos en un porcentaje de 0.4 (p/v) sobre la liberación de una lipasa por *Serratia marcescens* SM-6 (Winkler y Stuckmann, 1979) o 1% de aceite de soja o 0.5% de extracto de levadura según resultados logrados por Dharmstithi y Kuhasantisuk (1998) en la obtención de una lipasa de un cepa de *Pseudomona aeruginosa* LP602.

El mejor inductor de la enzima es la emulsión de aceite de palma con tween 20 adicionado al medio de cultivo en la hora 11 de fermentación, con un valor de 57.07 µM de PNP liberados. Según Ngom (2000), las lipasas catalizan la hidrólisis de sustratos cuando éstos se presentan en forma de micelas, agregados pequeños o partículas en emulsión debido a que el sitio en el que ocurre la lipólisis consiste mínimo de dos fases y por lo tanto se presenta mayor área de contacto.

Al utilizar aceite de palma como inductor se observa que el mejor resultado se obtiene cuando éste se adiciona en la hora 18 de la fermentación (fase estacionaria) lo que indica que cuando la bacteria ha consumido la fuente de carbono inicial empieza a utilizar el aceite como complemento de su fuente de carbono y por lo tanto se presenta más liberación de enzima.

Al observar los resultados cuando se utiliza tween 20 como inductor se obtiene un valor de 54.12 µM de PNP al adicionar éste inductor al iniciar la fermentación lo que parece indicar que la bacteria utiliza el tween 20 como fuente de carbono al igual que la glucosa. De otro lado, Shabtaí y Daya-Mishne (1991) sostienen que la adición de tween 20 al medio favorece la disociación de la enzima presente en la pared celular, liberando de esta forma más enzima al sobrenadante, por este motivo se presenta un valor más elevado cuando se adiciona tween 20 desde el momento inicial de la fermentación debido a que no sólo se libera la enzima libre presente en la bacteria sino también se libera la enzima que se encuentra unida a la pared celular.

Los resultados al utilizar tween 20 son superiores a los correspondientes al aceite ya que al parecer la bacteria hidroliza más fácil los enlaces del tween 20 que presenta una cadena lineal contrario a lo que sucede con el aceite que tiene una cadena constituida por tres triglicéridos. Según Castro y colaboradores (1999) la presencia de tween 20 facilita la incorporación de nutrientes en la membrana celular, favoreciéndose de esta forma la liberación de enzima y por lo tanto la hidrólisis.

En la figura 3 se observa la cinética de hidrólisis enzimática cuando se utiliza emulsión de aceite de palma con tween 20 adicionado al medio de cultivo en diferentes tiempos de inducción.

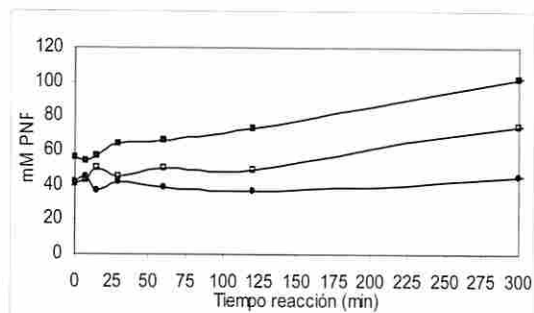


Figura 3. Cinética de hidrólisis enzimática de emulsión como inductor adicionado en la hora 0 (●), hora 11 (■) y hora 18 (▲) de la fermentación

Como se presenta en la figura 3 la liberación de 100 μM de PNP se logra a 300 minutos de la reacción con PNPP cuando éste se adiciona en la hora 11 de la fermentación, es decir, cuando la bacteria se encuentra en la fase exponencial. Al adicionar el inductor a las 11 horas en el medio de fermentación se tiene 74.30 μM de PNP liberados y al realizar la adición del inductor desde el tiempo inicial la liberación de PNP es de 44.40 μM . esto indica que cuando la bacteria se encuentra en la fase exponencial se presenta mayor liberación de enzima.

CONCLUSIONES

Se realizaron las cinéticas de crecimiento de *P. aeruginosa* y se determinó que los rendimientos más altos de biomasa sustrato se obtienen cuando se utiliza bajas concentraciones de glucosa, por lo tanto se establecieron los parámetros cinéticos de crecimiento de la bacteria al utilizar 3 y 5 g/L de glucosa en el medio de fermentación.

El mayor grado de hidrólisis de p-nitrofenil palmitato, representado como la liberación de p-nitrofenol, se presenta cuando se utiliza como inductor emulsión de aceite de palma con tween 20 y cuando ésta se adiciona durante la fase exponencial (hora 11 de fermentación) y en la fase estacionaria (hora 18 de fermentación).

Se realizó la hidrólisis enzimática para el mejor inductor (emulsión) determinando que la liberación de 100 μM de PNP se obtienen a los 300 minutos de reacción con PNPP como sustrato, cuando éste inductor se adiciona al medio a las 11 horas de fermentación.

AGRADECIMIENTO

A Colciencias y la Universidad de la Sabana por financiar el proyecto de investigación "Obtención de enzimas lipolíticas a partir de microorganismos aislados del fruto de palma aceitera", del cual hace parte este trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Castro, M. Cayré, M. Garro, O. Gerschenson, L. Campos, C. 1999. Efecto De La Interacción Tween 20 – Sorbato de Potasio En La Estabilidad Microbiológica De Emulsiones Alimenticias. En: <http://www1.unne.edu.ar/cyt/2001/8-Exactas/E-041.pdf> Consultado en: 10/10/2006

- Cenipalma. Oleoquímica. Centro de Investigación en Palma de Aceite. En: <http://www.cenipalma.org> Consultado en: 26/01/2006

- Dharmstithi, S. and Kuhasuntisuk, B. 1998. Lipase From *Pseudomonas aeruginosa* LP602: Biochemical Properties And Application For Wastewater Treatment. Journal Of Industrial Microbiology And Biotechnology, 21:75-80

- Gao, X. Cao, S. Zhang, K. 2000. Production, Properties And Application To Nonaqueous Enzymatic Catalysis Of Lipase From A Newly Isolated *Pseudomonas* Strain. Enzyme And Microbial Technology 27, 74-82

- Gupta, R. Gupta, N. Rath, P. 2004. Bacterial Lipases: An Overview Of Production, Purification, And Biochemical Properties. Applied Microbiology And Biotechnology, 64:763-781.

- Jaeger, K. Ransac, S. Dijkstra, B. Colson, C. Heuvel, M. Misset, O. 1994. Bacterial Lipases. FEMS Microbiology Reviews, 15:29-63.

- Morales, A.; Muñoz, M. 2005. Establecimiento De La Actividad Lipolítica Y De Las Condiciones De Crecimiento Del Microorganismo Presente En El Fruto De Palma Madura Para La Producción De Ácidos Grasos. Proyecto de grado para optar al título de Ingeniero de Producción Agroindustrial, Universidad de La Sabana. Chia (Colombia).

- Ngom, M. 2000. Induction And Production Of Specific Extracellular Lipases From Select Microorganisms. Department Of Food Science And Agricultural Chemistry. McGill University, Montreal, Quebec.

- Palmas. Editorial: Autonomía y Unidad Gremial del Sector Palmero. El Debate Actual Sobre La Competitividad y el Crecimiento del Cultivo. Revista Palmas, Volumen 25, Número 2, 2004. En: <http://www.fedepalma.org/> Consultado en: 06/10/2005

- Peña, F. 2005. Aprovechamiento De Aceites Residuales Del Proceso De Fritura Como Sustrato Para El Desarrollo De Microorganismos Productores De Lipasas. Proyecto de grado para optar al título de Ingeniero De Producción Agroindustrial, Facultad De Ingeniería, Universidad De La Sabana. Chia (Colombia).

- Shabtai, Y. daya-Mishne, N. 1991. Production, Purification, And Properties Of A Lipase From A Bacterium (*Pseudomonas aeruginosa* YS-7) Capable Of Growing In Water-Restricted Environments. Applied And environmental Microbiology. Vol. 58, N°1:174-180

- Serrano, Alicia. 2001. Estudio de la Producción Heteróloga de una Lipasa del Hongo *Rhizopus oryzae* en la Levadura Metilotrófica *Pichia pastoris*. Tesis doctoral, departamento de Ingeniería química, Universidad Autónoma de Barcelona.

- Sharma, R. Chisti, Y. Chand, U. 2001. Production, Purification, Characterization And Applications Of Lipases. Biotechnology Advances, 19:627-662.

- Winkler, U. Stuckmann, M. 1979. Glycogen, Hyaluronate, And Some Other Polysaccharides Greatly Enhance The Formation Of Exolipase By *Serratia marcescens*. Journal Of Bacteriology, Vol. 138(3): 663-670.

ESTUDIO PRELIMINAR PARA LA OBTENCIÓN DE EXTRACTO PECTÍNICO DE CÁSCARA DE XOCONOSTLE

Yáñez-Fernández, Jorge; González-Martínez, María Guadalupe y Jaime-Fonseca, Mónica
 UNIDAD PROFESIONAL INTERDISCIPLINARIA DE BIOTECNOLOGÍA
 DEPARTAMENTO DE BIOINGENIERÍA
 Av. Acueducto s/n Col. Barrio la Laguna Ticoman CP 07340, Delegación Gustavo A.Madero. México
 D.F., jyanezfe@ipn.mx

Palabras clave: Xoconostle, viscosidad, pectina

RESUMEN

Extracto pectínico fue obtenido de cáscara de xoconostle (*Opuntia joconostle*) del municipio de San Martín de las Pirámides Estado de México. La extracción de pectina se realizó a partir de la cáscara del fruto, previamente escaldado, secado y molido, empleando gradientes de ácido clorhídrico de 0.05N, 0.03N, 0.1N y temperaturas de 80 a 90°C y tiempos de calentamiento de 50 a 90 minutos, posteriormente se realizó una precipitación en alcohol etílico absoluto, obteniendo un rendimiento de extracción de 15 % en base seca y un grado de esterificación del 87%. Con la pectina obtenida se prepararon dispersiones a concentraciones de 0.5, 1.0 1.5% y se determinó las curvas de flujo. Al aplicar el modelo de la ley de la potencia, el comportamiento reológico de las dispersiones preparadas, fue de un fluido no Newtoniano de tipo pseudoplástico.

INTRODUCCIÓN

Existen en México, cactáceas con gran potencial económico y de desarrollo para la zona en donde crecen; sin embargo, en la mayoría de los casos se carece de un método adecuado para aprovecharlos comercialmente, lo que además restringe su consumo a ciertas temporadas. Uno de estos frutos es el xoconostle (tunas ácidas), obtenidos a partir de algunas especies de *Opuntia joconostle* y *O.matudae*, con altos contenidos de ácido ascórbico (Zavaleta-Beckler, col. 2001), que goza de gran demanda durante todo el año debido principalmente a su sabor y apariencia, además de que se le asocia con múltiples cualidades terapéuticas.

México es el principal productor de tuna y xoconostle (*Opuntia joconostle*) con cerca del 80% de la producción mundial sin embargo, llega a perderse hasta el 60% por la saturación del mercado y su poco aprovechamiento (Olivares, 1992). Particularmente el xoconostle el cual se comercializa en fresco o en forma de algunos dulces y jaleas. De forma artesanal puede tener uso potencial en la industria de los alimentos, además el uso de la cáscara como fuente de pectinas, las cuales pueden poseer características físicas y químicas que permitan utilizarlas como agentes estabilizantes y espesantes en sistemas alimenticios. Las pectinas son heteropolisacáridos que se presentan en la naturaleza como elementos estructurales del sistema celular de las plantas. Su componente principal es el ácido poligalacturónico, que existe parcialmente esterificado con metanol. Se encuentran principalmente en frutas y vegetales, para aprovechar su capacidad para balancear el equilibrio de agua en el sistema (Herbstreith, 2001).

Las pectinas se obtiene de materiales vegetales que tienen un alto contenido de éstas, tales como manzanas, frutas cítricas, piña, guayaba dulce, tomate de árbol, maracuyá y remolacha. Según el tratamiento aplicado a las materias primas se obtienen diferentes calidades de pectinas, de acuerdo a las necesidades de los productos. Las pectinas son en la actualidad, ingredientes de muy importantes en la industria de los alimentos, para hacer gelatinas, salsas, quesos etc. También se emplean en otras industrias, como la farmacéutica, que requiere modificar la viscosidad de sus productos, y en la industria de los plásticos así como en la fabricación de productos espumantes, como agente de clarificación y aglutinantes (Gómez, 1998)

El objetivo del presente trabajo consistió en la extracción y cuantificación de sustancias pecticas de la cáscara del xoconostle (*Opuntia joconostle*) y comportamiento reológico de sus dispersiones.

MATERIALES Y METODOS

La materia prima empleada fue el fruto de xoconostle (*Opuntia joconostle*), obtenido de las huertas del Municipio de San Martín de las Pirámides Estado de México. El fruto seleccionado tuvo forma elipsoide a piriforme, de 4 a 6 cm de longitud promedio y diámetro promedio entre 3 y 5 cm, externamente el fruto seleccionado tuvo un color entre verde y rosa pálido.

Preparación y acondicionamiento de la materia prima. La materia prima es sometida a los siguientes tratamientos: escaldado, secado y molienda. El escaldado tiene la función de inactivar enzimas. El secado permite que la materia prima se almacene conservando sus propiedades. La molienda favorece la difusión de las sustancias extractos al lograr una mayor área de contacto.

Conversión de protopectina a pectina soluble. La protopectina esta presente en las frutas y vegetales inmaduros. Esta presente de tal forma que la solubilización requiere de hidrólisis ácida. La conversión de protopectina a pectina se denomina "extracción" y se puede efectuar con varios ácidos minerales como: sulfuroso, sulfúrico, clorhídrico o nítrico. Para la extracción de la pectina se utilizaron soluciones de ácido clorhídrico en diferentes concentraciones (0.05N, 0.03N, 0.1N) y tratamientos térmicos desde 80 a 90°C y tiempos de 50 a 90 minutos.

Filtración y concentración de la pectina. Para la filtración se llevo a cabo por medio de una sedimentación, filtración y centrifugación. Para aclarar y eliminar impurezas se ha reportado la utilización de tierras infusorias y agentes decolorantes tales como; SO₂ y carbón de madera.

Precipitación de la pectina. Para precipitar la pectina se han reportado disolventes como etanol, metanol, isopropanol y acetona. Como resultado de agregar el disolvente se obtiene un precipitado gelatinoso que al lavarlo con alcohol queda libre de solutos indeseables y simultáneamente se deshidrata. En este caso se utilizo alcohol etílico para llevar a cabo la precipitación de la pectina.

Purificación y secado. La pectina se escurre, se prensa y se seca a 60°C, se deja enfriar y se tritura. En la figura 6 se muestra el diagrama de bloques para la extracción de la pectina (Chaires, 2002) de la cáscara de xoconostle.

Determinación del grado de esterificación. De las dispersiones realizadas se titularon con hidróxido de sodio agregando fenoltaleína como indicador. Se dejaron reposar durante 10 minutos, se volvieron a titular con ácido clorhídrico (Kertsz, 1951). Finalmente se contabilizan los grupos carboxilo esterificados por gramo de muestra. **Formación de dispersiones.** Se realizaron dispersiones de pectinas cítricas y de cáscara de xoconostle a concentraciones de 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0%. Se mantuvieron en agitación durante 30 minutos a temperatura ambiente. Con la finalidad de complementar su hidratación se calentó cada dispersión a 60-65 °C en agitación constante y finalmente se dejaron enfriar a temperatura ambiente.

Evaluación del comportamiento al flujo. Se evaluó el comportamiento al flujo que presentaron las diferentes dispersiones de pectinas (comercial y de la cáscara de xoconostle) con un viscosímetro Haake RV20 a 25°C y se determinó el índice de consistencia (k) y el índice del comportamiento al flujo (n) utilizando el modelo de Ley de la Potencia

$$(\tau=kY^{n-1}).$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos para el rendimiento de extracción fueron de 15 % en base seca para la pectina de cáscara de xoconostle, mientras que para de pectinas cítricas se reportan rendimientos del 25 al 30 % (Chaires.2002).

El grado de esterificación de la pectina obtenida fue del 87%, localizándola así dentro de las pectinas de alto metoxilo, figura 1. Las pectinas de alto metoxilo tienen la habilidad de formar geles con azúcar, esta propiedad les puede permitir un uso potencial en la elaboración de postres y mermeladas.

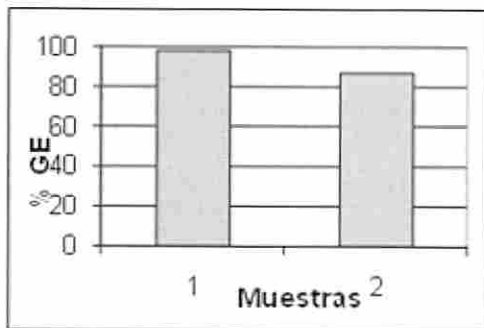


Figura 1. Grado de esterificación (GE) pectina comercial (1) y de la pectina extraída de la cáscara de xoconostle (2) (s \pm 0.026).

La figura 2 muestra el reograma de comportamiento al flujo de la pectina obtenida de cáscara de xoconostle, en donde se observa un comportamiento no-Newtoniano para las concentraciones evaluadas. A los resultados de comportamiento al flujo de las dispersiones de pectina se les aplico el modelo de la ley de la potencia ($\tau = k\dot{\gamma}^n$) para obtener los parámetros de índice de consistencia (k) e índice de comportamiento al flujo (n), los cuales se muestran en el cuadro 1. El modelo de la ley de la potencia se ajusto bastante bien a los resultados experimentales obteniéndose valores de n menores a la unidad, lo que indica que las dispersiones en todos los casos se comportaron como fluidos no Newtoniano de tipo pseudoplástico, esto debido a la disminución de la viscosidad aparente al incrementar la velocidad de cizalla. Las pectinas son polímeros que forman redes gelificadas que coexisten en una fase homogénea, que al ser sometidas a altas velocidades de deformación, disminuyen considerablemente su viscosidad aparente (η). La viscosidad aparente en la pectina comercial y la pectina de xoconostle aumentan a medida que se incrementa la concentración de las dispersiones, sin embargo los valores de viscosidad son de 3.31 a 5.77 veces mayores en la pectina cítrica respecto a la de xoconostle.

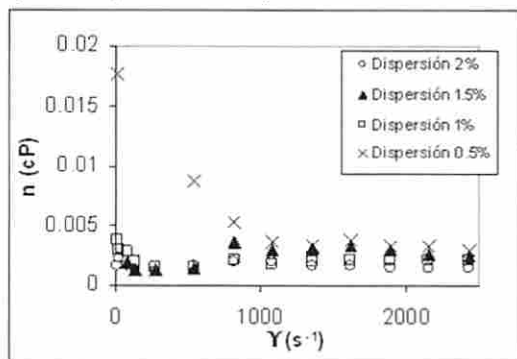


Figura 2. Reograma del comportamiento al flujo de las dispersiones de pectinas de cáscara de xoconostle.

Cuadro 1. Comportamiento al flujo de dispersiones de pectinas comerciales y pectinas de la cáscara de xoconostle.

Muestra	η (Pa.s)	K (Pa.s ⁿ)	n	R ²
A 0.5%	0.0053	553.7	0.981	0.912
A 1%	0.0127	221.9	0.901	0.913
A 1.5%	0.0292	218.7	0.723	0.924
A 2%	0.0237	33.38	0.713	0.932
B 0.5%	0.0016	93.73	0.888	0.986
B 1%	0.0022	45.63	0.911	0.979
B 2%	0.0053	14.28	0.861	0.995

A Pectina comercial

B Pectina de la cáscara de xoconostle

CONCLUSIONES

No obstante un rendimiento bajo en la extracción de pectina de xoconostle, el grado de esterificación obtenido indica su potencial empleo en la elaboración de postres. Las dispersiones preparadas con pectina de xoconostle presentan un comportamiento de tipo no-Newtoniano, con valores de viscosidad aparente menores a las presentadas por la pectina cítrica. El contenido de pectina preliminar en la cáscara de xoconostle, indica que puede ser considerada como una opción de aprovechamiento de este recurso, no obstante que sus dispersiones presentan una menor valor de viscosidad respecto a las dispersiones de pectina comercial.

AGRADECIMIENTO

Al Laboratorio de Pruebas Físicas de CICATA-IPN, por el apoyo brindado a la presente investigación.

BIBLIOGRAFIA Y REFERENCIAS

-Borrego, E. y Burgos, V. 1986. El Nopal. Ed. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, México. P.145.
 -Chaires, M. 2002. Aprovechamiento de polisacáridos de cáscara de tuna y de semilla de mezquite en la microencapsulación de oleorresinas de apio. Tesis de Maestría. CINVESTAV. México, D.F. p. 2-32.
 -Devia, D.2003. Proceso para producir pectinas cítricas. Rev. Universidad EAFIT No.129,pp. 21-30.
 -Herbstreith & Fox. 2001.The Specialists for pectins. <http://www.herbstreith-fox.de/produkte/englisch/einstant.htm> (10 feb.2001).
 -Glickman, M.1969. *Gum Tecnology the food Industry*, food science of monograpas Academy Press, New York.
 -Gómez Z., Juan F. 1998. Factibilidad Técnica del aislamiento y la Caracterización de pectina Cítrica para el Sector Agroindustrial (Trabajo de Grado). Medellín: Corporación Universitaria Lasallista, Facultad de Administración.
 -Olivares, O. 1992. Xoconostle. Observaciones Preliminares Acerca de su Presencia Cerca de la Región de Huichapan. Hgo. 5to. Congreso Nacional. 3er. Congreso Internacional. Memorias, Chapingo, México. p. 14.
 Scheinvar, L. 1999. Biosistemática de los xoconostles mexicanos y su potencial económico. Memorias del VIII Congreso Nacional y VI Internacional sobre Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. Univ. Autónoma de San Luis Potosí, México. pp. 255-274.
 -Zavaleta, B, Olivares O., Montiel S. Chimal H., y Scheinvar, L.,2001. Fertilización Orgánica en Xoconostle (*Opuntia joconostle* y *O. matudae*) Agrociencia 35: 609-614.

UTILIZACIÓN DE RESIDUOS AGRÍCOLAS EN LA PRODUCCIÓN DE SHIITAKE (*Lentinula edodes*)

Michilena, Ana; German, César y Álvarez, Mario
 UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
 CENTRO DE INVESTIGACIONES
 FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
 Casilla 18-01-0334. e-mail: marioferalv@hotmail.com
 AMBATO – ECUADOR

Palabras clave: Biotecnología de Alimentos, *Lentinula edodes*, eficiencia biológica, secado, aminoácidos.

RESUMEN

Para la producción de *Lentinula edodes* se utilizaron los siguientes residuos agrícolas: seudotallo, raquis, hojas y fruto de banano, cáscara de cacao, borra de café y bagazo de caña de azúcar. Se determinaron el rendimiento y la eficiencia biológica de los dos Shiitake en cada sustrato. Las eficiencias van desde 5.57% para el fruto de banano verde con *Lentinula edodes* de Wb-Laboratory – Canadá hasta 43.60% para borra de café con *Lentinula edodes* R-26 de la Universidad de Pennsylvania, USA. En las setas obtenidas de los mejores sustratos se realizaron análisis proximales y de aminoácidos. El contenido de proteína en base seca fue de 20.75% para Shiitake R-26 y 17.48% para Shiitake de Canadá. Las setas de Shiitake R-26 presentaron mejor balance de aminoácidos que las de Canadá. Con respecto a lisina tienen 4.19g/100g de proteína para las R-26 de USA y 3.83g/100g de proteína para las de Canadá. La humedad promedio de las setas después de la cosecha fueron 85.33% para el de Canadá y 85.17% para los R-26 de USA. Las setas fueron sometidas a un proceso de secado en un secador de bandejas a 55-60°C. Después de 150 minutos de secado logran alcanzar humedades inferiores al 12 %, considerada adecuada para su conservación. El Shiitake R-26 alcanza una humedad de 11.50% y el de Canadá de 9.9% después del secado.

INTRODUCCIÓN

Lentinula edodes, conocido como Shiitake es el segundo hongo comestible en importancia en cuanto a la producción mundial se refiere. Principalmente es cultivado en China, Taiwán, Tailandia, Corea, Malasia y en menor escala en Indochina, Nueva Zelanda y Rusia. En los primeros países el cultivo se realiza a nivel de planta familiar por lo que el desarrollo e información respecto al cultivo de este hongo comestible es bastante limitado. Japón es el mercado más importante del hongo Shiitake, donde crece de forma natural en árboles caídos. Sin embargo, como no pueden cortar árboles deben abastecerse de la oferta proveniente de China, país que actualmente produce el 90% del consumo mundial (MushWorld, handbook 2, 2005). Mori, K. (1974) indica que el Shiitake es consumido en las más diversas formas que se puede imaginar de un hongo comestible.

En primer lugar, como hongo fresco, condición en la cual alcanza mejor precio; deshidratado, lo que permite acentuar más sus sabor y aroma; molido para saborizantes, extractos líquidos; un tipo de vino que producen los japoneses e incluso galletas y dulces de este hongo. El consumo no sólo se debe a las cualidades alimenticias y gastronómicas, sino también a las propiedades medicinales que resultan ser excepcionales.

En Sudamérica se produce mayormente el hongo champiñón, que es el más consumido a nivel mundial y muy poco otros tipos de hongos como el Shiitake. En Ecuador no existe producción de Shiitake (Palacios, A., 2007).

Según Grodzinskaya, A. *et al.* (2002) la producción de setas representa una importante alternativa para la utilización de desechos ricos en lignocelulosa, material que representa cerca del 40% de la biomasa producida por la fotosíntesis y que no puede ser aprovechada en forma directa para la alimentación humana y animal, debido a la baja digestión. El cultivo de los

hongos representa un proceso de bioconversión de estos desechos.

En Ecuador los cultivos permanentes, ocupan una superficie de 1 363 414 hectáreas, los principales son: banano, cacao, café, caña de azúcar, y palma africana. El cacao es el cultivo permanente de mayor área sembrada con alrededor de 434 000 hectáreas (Arévalo, F., 2002). Todos estos cultivos producen una gran cantidad de residuos que no se utilizan adecuadamente y son un foco de contaminación ambiental. En la presente investigación se evaluaron varios residuos agrícolas como potenciales sustratos para el cultivo de Shiitake.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Se utilizaron residuos de banano, *Mussa cavendish*, como hojas, seudotallo, caquis y fruto; panca de arroz, *Oriza sativa* L.; borra de café, *Coffea arabica* L.; cáscara de cacao, *Theobroma cacao* L. y bagazo de caña, *Saccharum officinarum* L. Los residuos fueron recolectados en Babahoyo, Santo domingo, Manta y Puyo. Luego fueron trasladados a la Universidad Técnica de Ambato, para su posterior utilización. Se utilizaron dos cepas, la una procedente de Wb-Laboratory – Canadá y la segunda de la Universidad de Pennsylvania, USA (Cepa R-26)

Métodos

La investigación se realizó en la Unidad de Investigación en Tecnología de Alimentos perteneciente a la Facultad de Ciencia e Ingeniería de Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato. La ciudad de Ambato se halla situada a 2400 msnm, 14 – 17 °C y 50-60 % HR.

Preparación de los inóculos

Las cepas de *Lentinula edodes* se sembraron en cajas Petri con agar PDA estéril y se incubaron a 22-24 °C, hasta el total recubrimiento del hongo en la caja. Para la preparación de la semilla (inóculo), se utilizaron granos de trigo lavados, hidratados y sumergidos en una solución de benomyl al 0.02 % por 10 minutos. Se colocaron aproximadamente 400 gramos de cebada hidratada, en frascos de boca ancha, los cuales fueron esterilizados en autoclave a 121°C por 30 minutos. Con la ayuda de un bisturí estéril se cuadrículó el micelio de *Lentinula edodes* de la caja Petri y se depositaron en frascos con los granos de trigo estériles y fríos. Se incubaron los frascos en un armario a oscuridad por más de 30 días a 20-25°C, hasta que el micelio cubrió totalmente los granos.

Fermentación en estado sólido

Los residuos agrícolas húmedos fueron secados utilizando un secador de bandejas a 50-55 °C, hasta alcanzar humedades inferiores a 12 %. Para la preparación de los residuales como sustratos, fueron cortados en un tamaño aproximado de 2 x 2 cm, luego fueron lavados, hidratados y sumergidos en una solución de benomyl al 0.02% durante 10 minutos. Los sustratos fueron mezclados de la siguiente manera, por cada

100 kg de residuo seco se agregó 0.22 kg de CaCO₃ y 1.42 kg de azúcar. luego fueron pasteurizados con vapor por un tiempo de 5-6 horas. Una vez acondicionados los sustratos; asépticamente se colocaron 1500 g de sustrato en fundas plásticas de 18 x 10 pulgadas de color negro con 105 gramos de inóculo.

Los sustratos inoculados se colocaron en cuartos apropiados para el desarrollo vegetativo entre 20-28 °C y 70-80% HR. Al séptimo día de la incubación se realizaron perforaciones en las fundas plásticas con agujeros de 0.5 cm de diámetro separados de 8 cm cada uno para permitir el intercambio de gases. A los 60 días de fermentación, cuando cubrió totalmente el micelio y se formó el amorrónamiento, se sumergieron los bloques en agua fría a 13-15 °C por 12 horas y se colocaron en un cuarto a 18-25°C y 70-90% HR. En el cuarto de fructificación se realizaron varios procesos de ventilación con la finalidad de eliminar el CO₂ que se produce en esta etapa La iluminación se simuló un ambiente natural (de 500 - 2000 lux durante 12 horas al día), para lo cual se utilizó tubos fluorescentes y luz difusa natural.

Una vez que los cuerpos fructíferos lograron el crecimiento óptimo, se procedió a la cosecha y se determinaron el rendimiento y la eficiencia biológica de los sustratos. El rendimiento en cada cosecha esta definido como la relación en porcentaje entre el peso fresco de la seta y el peso del sustrato húmedo y la eficiencia biológica esta definida como el porcentaje del peso fresco de la seta con relación al peso seco del sustrato.

Para el análisis de aminoácidos de las setas provenientes de los mejores tratamientos se realizaron en el Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias INIAP en un cromatógrafo líquido de alta eficiencia "Shimadzu". En los análisis proximales de las setas se utilizaron las siguientes técnicas: humedad (AOAC 24.003), cenizas (AOAC 14.0069), grasa (AOAC 24.0059), fibra (AOAC 7.061), proteína (AOAC 14.068) y carbohidratos por diferencia a partir de los porcentajes de humedad, proteína, cenizas, fibra y materia grasa.

Para determinar las curvas de secado de *Lentinula edodes*, las setas cosechadas fueron cortadas en tiras de 1cm, y puestas a secar en un secador de bandejas a 55-60°C, con un flujo de aire de 0.7m/s y 8-10% de humedad relativa. La pérdida de peso fue registrada durante 250 minutos de secado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1, se indican los valores promedios de tres replicas del rendimiento y eficiencia biológica de la primera cosecha de las setas *Lentinula edodes* en los diferentes tratamientos. Se observa que los rendimientos van desde 1.29% en fruto verde de banano con *L. edodes* R-26 hasta 8.66% en borra de café con *L. edodes* R-26. Las eficiencias van desde 5.57% para el fruto de banano con *L. edodes* de Canadá hasta 43.60% para borra de café con *L. edodes* R-26, considerándose el mejor tratamiento. Al realizar el análisis de varianza de la eficiencia biológica se obtuvo diferencia estadística significativa en los sustratos y no para las dos cepas. Los mejores sustratos fueron borra de café y caña de azúcar. Las setas de Shiitake de Canadá al final de la cosecha son un poco más grandes que los R-26 de USA, con valores de 6.5 a 10 cm y de 5.2 a 9.8 cm respectivamente.

Tabla 1. Rendimiento y eficiencia biológica de *Lentinula edodes*

Tratamientos	Rendimiento %	Eficiencia biológica %
seudotallo de banano- <i>Lentinula edodes</i> (Wb-Laboratory – Canadá)	7.57	28.86
seudotallo de banano - <i>Lentinula edodes</i> (R26-USA)	6.95	24.94
Fruto de banano - <i>Lentinula edodes</i> (Wb-Laboratory – Canadá)	1.84	5.57
Fruto de banano- <i>Lentinula edodes</i> (R26-USA)	1.29	3.88
Borra de café- <i>Lentinula edodes</i> (Wb-Laboratory – Canadá)	7.17	38.34
Borra de café- <i>Lentinula edodes</i> (R26-USA)	8.67	43.60
Bagazo de caña- <i>Lentinula edodes</i> (Wb-Laboratory – Canadá)	7.11	37.71
Bagazo de caña- <i>Lentinula edodes</i> (R26-USA)	8.03	43.04
Cáscara de cacao- <i>Lentinula edodes</i> (Wb-Laboratory – Canadá)	5.29	15.23
Cáscara de cacao- <i>Lentinula edodes</i> (R26-USA)	4.89	13.08

Se probaron los Shiitake en hojas y raquis de banano y en panca de arroz, pero sin tener resultados en el crecimiento de los micelios. En un estudio realizado por Palacios, A. (2007) con *Pleurotus ostreatus* indica buenos resultados cuando utilizó como sustratos panca de arroz y mezclas de hojas con seudotallo de banano.

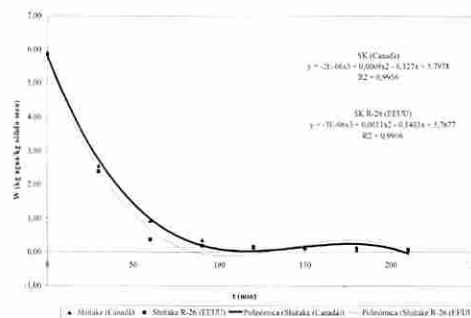


Fig. 1. Curvas de secado de las setas de *Lentinula edodes*

En la figura 1, se presenta las curvas de secado de las setas de Shiitake provenientes de los tratamientos que dieron mejores eficiencias biológicas como son las de borra de café – *Lentinula edodes* de Canadá y borra de café – *Lentinula edodes* R-26 de USA. Las curvas están relacionadas con los kg de agua sobre kg de sólidos secos con el tiempo de secado. En el gráfico se observa una curva típica de secado y sus ecuaciones polinómicas son:

Borra de café – *Lentinula edodes* de Canadá:
 $W = -2E-06x^2 + 0.0009x^2 - 0.127x + 5.7978$; ($r = 0.9978$)

Borra de café – *Lentinula edodes* R-26 de USA:
 $W = -3E-06x^3 + 0.0011x^2 - 0.1403x + 5.7677$; ($r = 0.9953$)

Donde: W= kg agua/kg sólidos secos

Las humedades promedio de las setas al inicio de la cosecha fueron 85.33% para las de Canadá y 85.17% para las R-26 de USA. Al final de los 150 minutos de secado alcanzan humedades de 11.50% para las R-26 y 9.9% para las de Canadá.

Tabla 2. Análisis proximal de setas *Lentinula edodes*

ANÁLISIS	*(Wb- Laboratory - Canadá)	*R26- USA	***(Wb- Laboratory - Canadá)	**R 26- USA
Humedad %	-	-	85.33	85.17
Cenizas %	4.47	4.80	0.66	0.71
Grasa %	1.77	2.60	0.26	0.39
Proteína %	17.48	20.75	2.56	3.08
Fibra %	17.79	16.92	2.61	2.51
Carbohidratos %	58.49	54.93	8.58	8.14

*En base seca, ** en base húmeda

En la Tabla 2, se reporta el análisis proximal de las setas provenientes de los tratamientos borra de café – *Lentinula edodes* de Canadá y borra de café – *Lentinula edodes* R-26 de USA. Además se observa que las setas en base seca presentan valores de proteína de 20.75% para Shiitake R-26 y 17.48% para Shiitake de Canadá. En base húmeda poseen 3.08% en Shiitake R-26 y 2.56% en el de Canadá. Con respecto a los carbohidratos, cenizas y la fibra los valores son similares para las dos setas. El Shiitake R-26 presenta un valor de 2.60% de grasa en base seca, el cual es mayor que el 1.77% que posee Shiitake de Canadá. Consideramos que las setas tienen alto contenido de proteína en comparación con algunos vegetales, una buena cantidad de carbohidratos y de fibra, bajo porcentaje en grasa, lo cual en ciertos casos es beneficioso para la salud del ser humano.

Tabla 3. Composición de aminoácidos de las setas *Lentinula edodes* y patrones FAO (g/100 g proteína)

Aminoácido	(R26- USA)	(Wb- Laboratory - Canadá)	*PATRÓN FAO 1985 Niños de 2 a 5 años	*PATRÓN FAO 2001 adultos
Histidina	2.17	1.77	1.9	-
Isoleucina	2.84	2.52	2.8	2.9
Leucina	5.73	4.92	6.6	5.9
Lisina	4.19	3.83	5.8	4.5
Metionina	0.43	0.11	2.50 (Met+Cys)	2.0 (Met+Cys)
Fenilalanina	11.81	11.04	6.3 (Phe+Tyr)	5.9 (Phe+Tyr)
Treonina	3.81	3.20	3.4	2.3
Valina	4.05	3.60	3.5	3.8
Triptófano	ND	ND	1.1	0.8
Tirosina	3.95	3.43	-	-
Alanina	4.58	3.83	-	-
Arginina	4.39	3.83	-	-
Ac. Aspartico	9.06	7.67	-	-
Ac. Glutámico	25.11	14.13	-	-
Glicina	3.42	3.15	-	-
Prolina	1.35	1.60	-	-
Serina	4.48	3.72	-	-
Cistina	1.11	0.86	-	-

ND no determinado

*Citado en Hernández, M. (2004)

En la Tabla 3, se presenta la composición de aminoácidos determinado por HPLC de las setas Shiitake obtenidas experimentalmente, en comparación con los aminoácidos de referencia de la Organización de las Naciones Unidas para la

Agricultura FAO, de 1985 para niños de 2 a 5 años y del 2001 para adultos. Se identificaron 17 de los 20 aminoácidos presentes en las proteínas. Los aminoácidos asparagina, cisteína y triptófano no se identificaron debido a las transformaciones que sufren al emplear en la metodología una hidrólisis ácida. Las setas de Shiitake R26 de USA presentan una mejor proporción de aminoácidos esenciales en comparación con las de Canadá. El Shiitake R26 son deficientes en leucina, lisina y metionina cuando se compara con el Patrón FAO para niños y para adultos; poseen una buena cantidad de lisina, 4.19 g/100 g proteína en comparación con el trigo que tiene 2.70 g/100 g proteína; el aminoácido más deficitario es la metionina con un valor de 0.43 g/100g proteína.

Los dos Shiitake tienen un sabor agradable y fuerte característico de los hongos, son de color café oscuro, acentuándose más el color al secarse.

CONCLUSIONES

El tratamiento que alcanzó la mejor eficiencia biológica fue borra de café - *Lentinula edodes* R-26 de USA con un valor de 43.6% en la primera cosecha, obtenida a los 110 días de cultivo. Las setas de Shiitake de Canadá fueron calificadas con mejor sabor que el Shiitake R-26. Las setas secas tienen alto contenido de proteína comparable con la cantidad de proteína presente en la carne en base fresca; poseen mejores cantidades de lisina que muchos cereales consumidos en Ecuador como el trigo.

Shiitake puede ser un alimento muy aceptado por el pueblo ecuatoriano por sus características nutricionales, organolépticas y medicinales. Es considerado un verdadero delicatessen en la cocina asiática; es utilizado como aderezos, en salsas, sopas, noodles y se le atribuyen diversas propiedades curativas (Przybylowics, P. and Donoghue J., 1990).

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Técnica de Ambato por intermedio del Centro de Investigaciones (CENI) y al Consejo Nacional de Educación Superior (CONESUP) por el financiamiento del proyecto.

BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS

- Álvarez, M., Soria, V. y Larrea, P. 2003. Enriquecimiento proteico del banano de rechazo por fermentación sólida para alimento animal. Ed. Public Asesores. DM Quito, Ecuador. 41 p.

- Arévalo, F. 2002. Servicio de información agropecuaria del ministerio de agricultura y ganadería del Ecuador. <http://www.sica.gov.ec>.

-Grodzinskaya, A.; Infante, D. y Piven, N. 2002. Cultivo de hongos comestibles utilizando desechos agrícolas e industriales. Caracas-Venezuela. Agronomía Tropical, 52(4):427-447.

- Hernández, M. 2004. Recomendaciones nutricionales para el ser humano: actualización. Rev Cubana Invest Bioméd. V.23 n.4, Ciudad de la Habana, 4sept.- dic.2004.

- Mori, K. (1974).Mushrooms as health foods. Tokyo: Japan Publications, 24-26 p.

- Mushroom Growers'Handbook 2 (2005). Shiitake cultivation. Ed. Mush World. República de Corea.

- Official Methods of Analysis of AOAC International, CD ROOM, 17 th Edition, Current Trough Revision # 1, 2002.

- Palacios, A. 2007. Utilización de residuos agroindustriales de la Costa en la obtención de setas *Pleurotus ostreatus* y *Pleurotus pulmonarius*. Tesis de grado previo a la obtención del título de Ingeniero en Alimentos. Universidad Técnica de Ambato. 97 p.

- Przybylowics, P. and Donoghue J. 1990. Shiitake grower handbook. The art and science of mushroom cultivation. Kendall/Hunt Publishing Company. United States of America. 217p.

EVALUACIÓN DE LOS RESIDUOS AGRÍCOLAS DE LA COSTA ECUATORIANA COMO SUSTRATOS PARA EL CULTIVO DE *PLEUROTUS*

Palacios, Adriana; German, César y Álvarez, Mario
 UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
 CENTRO DE INVESTIGACIONES
 FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
 Casilla 18-01-0334. e-mail: marioferalv@hotmail.com
 AMBATO – ECUADOR

Palabras clave: Biotecnología de alimentos, *Pleurotus*, sustratos, eficiencia biológica, aminoácidos

RESUMEN

Se evaluaron los residuos agrícolas de la costa ecuatoriana; los provenientes del cultivo del banano (hojas, seudotallo y raquis), cáscara de cacao, borra de café y panca de arroz, como potenciales sustratos para el cultivo comercial de *Pleurotus ostreatus* var. *Florida* CP-184 y *Pleurotus pulmonarius* N. 20 Pamela Fungi. Se determinaron la precocidad, el rendimiento y la eficiencia biológica de los dos tipos de setas en cada sustrato. En las setas obtenidas de los mejores sustratos se realizaron análisis proximales y de aminoácidos. *P. ostreatus* y *P. pulmonarius* presentaron mejores eficiencias biológicas en tres cosechas, con valores de 115.9 y 105.9 % respectivamente, cuando se cultivaron en el mejor sustrato que fue panca de arroz. El contenido de proteína de las setas de *P. ostreatus* y *P. pulmonarius* fueron de 23.29% y 23.62% en base seca respectivamente. Las setas de *Pleurotus* contienen todos los aminoácidos esenciales en diferentes proporciones, siendo la metionina el limitante. Si bien es cierto que las setas no tuvieron una excelente calidad proteica, se puede decir que tienen una calidad aceptable; poseen lisina en mayor proporción que muchos cereales como el trigo.

INTRODUCCIÓN

Los hongos silvestres del género *Pleurotus* están distribuidos en todo el mundo. *P. pulmonarius* y *P. cystidiosus* se encuentran en la región tropical y subtropical; mientras que *P. eryngii* se recolecta en Europa, África y la mayor parte de Asia, excepto Corea y Japón, donde el hongo se cultiva comercialmente. *Pleurotus ostreatus*, el hongo comercial más importante dentro del género *Pleurotus*, está difundido en áreas templadas. La especie es bastante adaptable a un rango de climas y materiales de sustrato (Mush World, 2005).

Según Chang, S. et al. (1978), la producción de hongos comestibles constituye la primera fermentación en fase sólida sobre desechos agrícolas que se tiene noticias. La tecnología del cultivo data de más de 2000 años, tradicionalmente ha sido y es un alimento de gran demanda por los valores nutritivos.

Alimentos de residuales fue el tema de un simposio internacional, durante el cual fue sugerido que muchos residuos agroindustriales pueden ser convertidos en productos de importancia económica, preferentemente en alimentos (Zanetti, A. and Ronal, M., 1996).

Los residuos agrícolas más importantes que produce Ecuador son los que provienen del cultivo del banano, por ser el primer exportador de este fruto en el mundo. Seguido de otros residuos como los del arroz, cacao, café y otros (Álvarez, M., 2003).

Según Bao, M. et al. (1987) una planta de banano al momento de la cosecha debe tener un peso promedio de 100 kg los cuales están repartidos en 15 kg de hojas, 50 kg de seudotallo, 33 kg de banano y 2 kg de raquis. Esto lógicamente indica que más del 75% del volumen total de producción lo constituyen los desechos que no aprovecha el hombre sistemáticamente, si no más bien es un foco de contaminación.

En los últimos cuarenta años la producción mundial de hongos comestibles se incrementó más de treinta y cinco veces: desde 24 mil tn en 1962 a 8.5 millones tn en 2002, y ese crecimiento se registró más marcadamente en los últimos quince años, colocando el valor mundial de los hongos cultivados en unos 23 mil millones de dólares. El hongo más consumido sigue siendo Champiñón, seguido de cerca por Shiitake y *Pleurotus* (Rodríguez, G., 2007).

Curvetto N. (2004) indica que los hongos comestibles tienen contenidos de 19 – 35 % de proteína en base seca, relativamente altos porcentajes de carbohidratos, bajos en grasa total, pero con un contenido alto en ácidos grasos poliinsaturados; la mayoría de las especies de hongos contienen cantidades de fibras nutricionalmente valiosas, y cantidades significativas de vitaminas solubles en agua (tiamina, riboflavina, niacina y ácido ascórbico), así como de minerales.

En países en vías de desarrollo como el Ecuador la producción de hongos resulta atractiva, dado que *Pleurotus* crece en residuos agrícolas. Esto nos permite conseguir sustratos a precios bajos e inclusive gratuitos. En la presente investigación se evaluaron varios residuos agrícolas como potenciales sustratos para el cultivo de *Pleurotus*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Se utilizaron residuos de banano, *Mussa cavendish*, como: hojas, seudotallo y raquis; panca de arroz, *Oriza sativa* L; borra de café, *Coffea arabica* L. y cáscaras de cacao, *Theobroma cacao* L. Los residuos fueron recolectados en Babahoyo, Santo domingo, y Manta. Luego fueron trasladados a la Universidad Técnica de Ambato, para su posterior utilización.

Las cepas utilizadas fueron *Pleurotus ostreatus* var. *Florida* CP-184 de la colección del Centro de Estudios de Biotecnología Industrial, Universidad de Oriente Cuba y *Pleurotus pulmonarius* N. 20 Pamela Fungi.

Métodos

La investigación se realizó en la Unidad de Investigación en Tecnología de Alimentos perteneciente a la Facultad de Ciencia e Ingeniería de Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato. La ciudad de Ambato se halla situada a 2400 msnm, 14 – 17 °C y 50 – 60 % HR.

Preparación de los inóculos

Las cepas de *Pleurotus* se sembraron por separado en cajas Petri con agar PDA estéril y se incubaron a 22-24 °C, hasta el total recubrimiento del hongo en la caja. Para la preparación de la semilla (inóculo), se utilizaron granos de cebada lavadas, hidratadas y sumergidas en una solución de benomyl al 0.02 % por 10 minutos. Se colocaron aproximadamente 400 gramos de cebada hidratada, en frascos de boca ancha, las cuales fueron esterilizadas en autoclave a 121°C por 30 minutos. Con la ayuda de un bisturí estéril se cuadrículó el micelio de

Pleurotus de la caja Petri y se depositaron en frascos con los granos de cebada estériles y fríos. Luego fueron llevados los frascos a una incubadora a 22-24°C y mantenidos a oscuridad por 15-26 días, hasta que el micelio cubrió totalmente los granos.

Fermentación en estado sólido

Los residuos agrícolas húmedos fueron secados utilizando un secador de bandejas de 40-50 °C, hasta una humedad inferior a 12 %. Para la preparación de los residuales como sustratos, fueron cortados en un tamaño aproximado de 2 x 2 cm, luego fueron lavados, hidratados y sumergidos en una solución de benomyl al 0.02% por 10 minutos y nuevamente lavados. Los sustratos fueron pasteurizados con vapor por un tiempo de 3 - 4 horas. Una vez acondicionado los sustratos, asépticamente se colocaron 1500 g de sustrato en fundas plásticas de 18 x 10 pulgadas de color negro con 150 gramos de inóculo.

Los sustratos inoculados se colocaron en cuartos apropiados para el desarrollo vegetativo, 22 - 28 °C. Para la inducción y desarrollo de las fructificaciones de 18 - 25 °C, humedad relativa, 70 - 90% y 400 - 800 lux, por alrededor de 9 - 48 días, dependiendo del sustrato. Al tercer día después de las inoculaciones se realizaron perforaciones en las fundas plásticas con agujeros de 0.5 cm de diámetro, separados de 8 cm cada uno, para permitir el intercambio de gases. En el cuarto de fructificación se realizaron varios procesos de ventilación con la finalidad de eliminar CO₂ que se produce en esta etapa. Una vez que los cuerpos fructíferos lograron el crecimiento óptimo, se procedió a la cosecha y se determinaron la precocidad, el rendimiento y la eficiencia biológica de los diferentes sustratos.

La precocidad está definido como el tiempo que transcurre entre el día de la incubación y el día en que aparecen los primeros primordios. El rendimiento en cada cosecha está definido como la relación en porcentaje entre el peso fresco de la seta y el peso del sustrato húmedo. La eficiencia biológica está definida como el porcentaje del peso fresco de la seta con relación al peso seco del sustrato.

Los análisis de aminoácidos de las setas provenientes de los mejores tratamientos se realizaron en el Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias INIAP en un cromatógrafo líquido de alta eficiencia "Shimadzu". Para los análisis proximales de las setas se utilizaron las siguientes técnicas: humedad (AOAC 24.003), cenizas (AOAC 14.0069), grasa (AOAC 24.0059), fibra (AOAC 7.061), proteína (AOAC 14.068) y carbohidratos por diferencia a partir de los porcentajes de humedad, proteína, cenizas, fibra y materia grasa.

Para determinar las curvas de crecimiento de las setas de *Pleurotus* en el mejor sustrato, se graficaron los valores obtenidos del tamaño de las setas en mm con relación al tiempo de crecimiento en días.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Luego de haber evaluado los resultados de la precocidad, rendimiento y eficiencia biológica, se determinaron como los mejores tratamientos, la panca de arroz - *P. ostreatus* CP-184, seguido muy de cerca por panca de arroz - *P. pulmonarius* N. 20 Pamela Fungi, con rendimientos de 31.16% y 28.45%, eficiencias biológicas de 115.98% y 105.90%, precocidad de 20 y 27 días respectivamente (Tabla 1).

El tratamiento hojas +seudotallo de banano - *P. ostreatus* CP-184 presentó valores de 24 de precocidad, 26.14 % de rendimiento y 96.82% de eficiencia biológica, que también son considerados altos, muy buenos para una producción industrial.

Tabla 1. Precocidad, rendimiento y eficiencia biológica de las setas *P. ostreatus* y *P. pulmonarius* en relación a tres cosechas

Tratamientos	P. Días	R. %	E.B. %
Hojas +seudotallo de banano* - <i>P. ostreatus</i> CP-184	24	26.14	96.82
Hojas +seudotallo de banano* - <i>P. pulmonarius</i> N. 20 Pamela Fungi	14	23.21	82.96
Raquis de banano - <i>P. ostreatus</i> CP-184	48	11.91	18.49
Raquis de banano - <i>P. pulmonarius</i> N. 20 Pamela Fungi	49	10.43	16.15
Cáscara de cacao - <i>P. ostreatus</i> CP-184	20	12.00	33.47
Cáscara de cacao - <i>P. pulmonarius</i> ITA-20	10	6.60	17.78
Borra de café - <i>P. ostreatus</i> CP-184	41	12.66	31.18
Borra de café - <i>P. pulmonarius</i> N. 20 Pamela Fungi	43	6.60	15.15
Panca de arroz - <i>P. ostreatus</i> CP-184	20	31.16	115.98
Panca de arroz - <i>P. pulmonarius</i> <i>pulmonarius</i> N. 20 Pamela Fungi	27	28.45	105.90

* En una proporción de 1 parte de hojas y 1 parte de seudotallo de banano en peso seco.

P = precocidad en días, R = rendimiento en porcentaje
E.B = eficiencia biológica en porcentaje

En la Tabla 2, se reportan los datos del análisis proximal para las setas de *Pleurotus* en base húmeda y en base seca provenientes de los mejores tratamientos. El contenido de proteína de las setas de *P. ostreatus* y *P. pulmonarius* fueron de 23.29% y 23.62% en base seca respectivamente, en tanto que en base húmeda 3.19% y 3.62%. *P. ostreatus*, contienen 1.44 de ceniza, 0.26 de grasa, 5.95% de carbohidratos y 2.86 % de fibra en base fresca. *P. pulmonarius* tiene 1.63 de cenizas, 0.30 de grasa, 6.74% de carbohidratos y 3.24 % de fibra en base fresca.

Consideramos que las setas tienen altos contenido de proteína en base seca en comparación con algunos alimentos convencionales, una buena cantidad de carbohidratos y de fibra, bajo porcentaje en grasa, lo cual en ciertos casos es beneficioso para la salud del ser humano.

Tabla 2. Análisis proximal de setas *Pleurotus*

ANÁLISIS	*P. <i>ostreatus</i>	*P. <i>pulmonarius</i>	**P. <i>ostreatus</i>	**P. <i>pulmonarius</i>
Humedad %	-	-	86.30	84.47
Cenizas %	10.52	5.94	1.44	1.63
Grasa %	1.92	1.97	0.26	0.30
Proteína %	23.29	23.62	3.19	3.62
Fibra %	20.87	15.89	2.86	3.24
Carbohidratos %	43.40	52.58	5.95	6.74

*En base seca, ** en base húmeda

Según Durango J. y Pino S. (2005), en Ecuador existe una desnutrición crónica en niños menores de 5 años con un porcentaje de 26.4%; mientras que la desnutrición global es de 14.3%. Por las cualidades nutricionales de *Pleurotus*, que es considerado según Mush World, 2005, como la carne de los pobres; su cultivo podría ayudar a mejorar la nutrición de la población ecuatoriana, sobre todo de los más pobres. Además existe disponibilidad de gran cantidad de residuos orgánicos que no se dan un uso adecuado, como los del arroz y del banano.

Tabla 3. Composición de aminoácidos en *Pleurotus* y patrones FAO (g/100 g proteína)

ND no determinado

Aminoácido	<i>P. ostreatus</i>	<i>P. pulmonarius</i>	*PATRÓN FAO 1985 Niños de 2 a 5 años	*PATRÓN FAO 2001 adultos
Histidina	2.66	1.99	1.9	-
Isoleucina	2.96	2.62	2.8	2.9
Leucina	5.45	4.66	6.6	5.9
Lisina	4.77	4.40	5.8	4.5
Metionina	0.73	0.76	2.50 (Met+Cys)	2.0 (Met+Cys)
Fenilalanina	10.99	7.15	6.3 (Phe+Tyr)	5.9 (Phe+Tyr)
Treonina	3.82	3.13	3.4	2.3
Valina	3.99	3.39	3.5	3.8
Triptófano	ND	ND	1.1	0.8
Tirosina	6.66	6.99	-	-
Alanina	5.62	4.70	-	-
Arginina	5.67	3.26	-	-
Ac. Aspartico	10.95	10.37	-	-
Ac. Glutámico	18.55	15.11	-	-
Glicina	3.82	3.18	-	-
Prolina	2.88	2.29	-	-
Serina	4.55	3.43	-	-
Cistina	0.13	0.17	-	-

*Citado en Hernández, M. (2004)

La Tabla 3, se presenta la composición de aminoácidos determinado por HPLC de las setas *Pleurotus* obtenidas experimentalmente, en comparación con los aminoácidos de referencia de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura FAO, de 1985 para niños y del 2001 para adultos. Se identificaron 17 aminoácidos de los 20 presentes en las proteínas. Los aminoácidos asparagina, cisteína y triptófano no se identificaron debido a las transformaciones que sufren al emplear en la metodología una hidrólisis ácida.

Las setas *P. ostreatus* presenta una mejor proporción de aminoácidos esenciales en comparación con *P. pulmonarius*. Si bien es cierto que las setas son deficientes en leucina, lisina y metionina cuando se compara con el Patrón FAO para niños y en leucina y metionina en adultos, poseen una buena cantidad de lisina, 4.77 g/100 g proteína en *P. ostreatus* y 4.40 g/100 g proteína en *P. pulmonarius*. Lisina es el aminoácido deficitario de muchos cereales consumidos en Ecuador como el trigo.

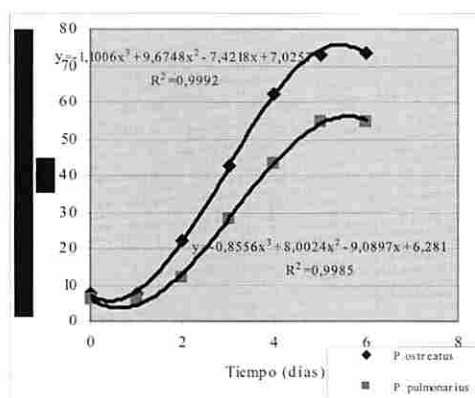


Fig. 1. Curvas de crecimiento de las setas *Pleurotus ostreatus* y *Pleurotus pulmonarius*

En el gráfico 1, se observa las curvas de crecimiento de las setas de *P. ostreatus* CP-184 y *P. pulmonarius* N. 20 Pamela Fungi con respecto al tiempo. Forman curvas características del crecimiento de microorganismos, con valores de:

$$y = -1.1006x^3 + 9.6748x^2 - 7.4218x + 7.0257; (r = 0.9995) \text{ para } P. \textit{ostreatus}.$$

$$y = -0.88556x^3 + 8.0024x^2 - 9.0897x + 6.281; (r = 0.9992) \text{ para } P. \textit{pulmonarius}.$$

Los mayores tamaños de las setas se obtienen al sexto día, aconsejando cosechar al quinto día, porque en el sexto comienza la esporulación de los hongos. Las setas durante el cultivo presentan diferentes tamaños, algunos alcanzan hasta 72.80 mm en *P. ostreatus* y 54.8 mm en *P. pulmonarius* cuando se cosechan en panca de arroz.

CONCLUSIONES

El tratamiento que alcanzó la mejor eficiencia biológica fue panca de arroz - *P. ostreatus* CP-184 con un valor de 115.98 % en las tres cosechas. Las eficiencias biológicas en las cosechas fueron: 72 % en la primera, 27.13% en la segunda y 16.85% en la tercera. Las setas secas tienen alto contenido de proteína comparable con la cantidad de proteína presente en la carne en base fresca; poseen mejores cantidades de lisina que muchos cereales consumidos en Ecuador como el trigo. Las setas presentan aminoácidos deficitarios como la metionina, sugiriéndose consumir con alimentos con altos contenido de este aminoácido, como por ejemplo la quínoa (*Chenopodium quinoa*).

La producción de *P. ostreatus* sería de gran beneficio para los agricultores más pobres del Ecuador, por que obtendrían un alimento de mejor sabor que el champiñón, de fácil cultivo y que puede dar lugar a la formación de microempresas familiares.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Técnica de Ambato por intermedio del Centro de Investigaciones (CENI) y al Consejo Nacional de Educación Superior (CONESUP) por el financiamiento del proyecto.

BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS

- Álvarez, M., Soria, V. y Larrea, P. 2003. Enriquecimiento proteico del banano de rechazo por fermentación sólida para alimento animal. Public Asesores. DM Quito, Ecuador. 41 p.
- Bao, M., Delgado, S., García, M. y Torres M. 1987. Aprovechamiento de residuos de plataneras. I. Producción en Islas Canarias, sus características y alternativas de utilización. Rev Agroquim Tecnol Aliment. 27:24-30.
- Curvetto, N. (2004). Biotecnología en hongos superiores. Posibilidades presentes y futuras. AgroUNS, N.2, Año1:12-15.
- Chang, S., Hayes, W., Zadril, L. and Kurtman, R. 1978. The biology of *Pleurotus* cultivation in the tropics. The Chinese University Press, Hong Kong.
- Durango J. y Pino D. (2005). Acciones y experiencias de seguridad alimentaria en Ecuador. Programa Especial seguridad alimentaria de Ecuador. SPFP/ECU/6701. 102 p.
- Hernández, M. 2004. Recomendaciones nutricionales para el ser humano: actualización. Rev Cubana Invest Bioméd V.23 n.4. Ciudad de la Habana sept.-dic.2004.
- Mush World. 2005. Manual del cultivo de hongo 1. Publicado por Mush World. Impreso en la República de Corea. www. MushWorld.com.
- Official Methods of Analysis of AOAC International, CD ROOM, 17 th Edition, Current Trough Revision # 1, 2002.
- Rodríguez, G. (2007). Cultivo de hongos comestibles. Fruticultura & Diversificación, Argentina, (52): 10-15.
- Zanetti, A. & Ronal, M. 1996. Efeito de diferentes resíduos agroindustriais na miceliação de *Pleurotus* sp "Florida", em Uberlândia, MG. Pesq. agropec. bras., Brasília, v.31,n.3. p215-220, mar.

INFLUENCIA DEL ESPESOR SOBRE LAS PROPIEDADES MECANICAS DE PELICULAS DE ALMIDON

M.A. Bertuzzi*, M. Armada, J.C. Gottifredi

Instituto de Investigaciones para la Industria Química (INIQUI-CONICET)

Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Salta

Buenos Aires 177, A4402FDC - SALTA - ARGENTINA

E-mail: bertuzzi@unsa.edu.ar

Palabras clave: Tecnología, películas de almidón, espesor, propiedades mecánicas, cristalinidad.

RESUMEN

En este trabajo se justifica, mediante ensayos de difracción de rayos X, la influencia del espesor sobre la estructura y las propiedades mecánicas de películas de almidón de alta amilosa (HACS). El esfuerzo de tracción (TS) y el porcentaje de elongación de rotura (%E) de las películas se obtuvo mediante ensayos de tracción. Las películas elaboradas con un 30% de glicerol como plastificante se acondicionaron a 52% HR, 25°C durante una semana. Se encontró que el espesor de la película esta relacionado a su cristalinidad relativa. Una película gruesa requiere mayor tiempo de secado, entonces, la mayor movilidad de las cadenas y tiempo disponible para su reorganización conduce a una mayor cristalinidad relativa. El aumento de cristalinidad de las películas conduce a una mejora en sus propiedades mecánicas. TS y %E aumentan linealmente con el espesor de la película en todo el rango estudiado (30 a 100 µm).

INTRODUCCIÓN

Existe un notable interés en la utilización de recursos renovables para la elaboración de películas y envases para la protección de alimentos. Los polisacáridos tales como el almidón, la celulosa y sus derivados y las gomas vegetales están siendo estudiadas como materiales para la elaboración de películas y recubrimientos comestibles para el envasado y preservación de alimentos (Debeaufort et al., 1998; Guilbert, 1986). Desde 1950 se han publicado estudios sobre películas obtenidas a partir de soluciones o geles de almidón (Liu y Han, 2005; Lourdin et al., 1997; Zhang y Han, 2006). El almidón de alta amilosa (HACS) permite obtener películas resistentes y flexibles debido a la cristalinización de la amilosa (Myllärinen et al.; van Soes et al., 1996). Las películas basadas en amilosa o HACS se obtienen por lo general mediante disolución a muy alta temperatura (120-155°C) (Bader y Göritz, 1994a,b; Liu y Han, 2005; Rindlav-Westling, et al., 1998). Por otra parte, se sabe que un tratamiento alcalino del HACS favorece su disolución y la expansión de las cadenas de amilosa debido a las fuerzas de repulsión ocasionada por las cargas (Chen y Jane, 1994), situación que podría usarse para facilitar la formación de películas. Liu y Han (2005) estudiaron el proceso de formación de la película a partir de soluciones de almidón y encontraron que tiene tres pasos, la formación de hélices (durante el enfriamiento), la agregación o gelación y finalmente, la reorganización de agregados. Los últimos dos pasos ocurren durante la deshidratación. Las hélices de almidón que se empaquetan en arreglos regulares determinan la cristalinidad de las películas que puede ser evaluada mediante difracción de rayos X. Bader y Goritz (1994a) y Rindlav-Westling et al., (1997) mostraron que la cristalinidad de las películas de almidón dependía de la temperatura, la humedad del aire y el tiempo requerido para el secado desde gel a película.

Una adecuada resistencia mecánica asegura la integridad de la película, reduce la existencia de defectos (poros, grietas) que perjudican sus funciones de barrera y asegura resistencia a la abrasión o rotura. Una adecuada flexibilidad garantiza suficiente plasticidad para adaptarse a las posibles deformaciones del alimento sin romperse. Las propiedades mecánicas de las películas y recubrimientos comestibles dependen del tipo de material formador de película y de su cohesión (Guilbert, 1986). Rindlav-Westling et al. (1998) mostraron que la resistencia mecánica de películas plastificadas con glicerol dependía de la cristalinidad relativa en las películas

de amilopectina y de la microestructura en películas de amilosa. La cristalinidad relativa en películas de amilopectina aumentaba con el aumento de la HR del aire durante el secado, mientras que las películas sin plastificante se mantenían amorfas independientemente de la HR. El agregado de glicerol facilita la movilidad de las cadenas y una mayor HR del aire durante la formación de la película conduce a un mayor tiempo de cristalización durante el proceso de secado.

Existen muy pocos trabajos referidos a la influencia del espesor sobre las propiedades de películas comestibles. Algunos autores han mostrado que el espesor de la película puede afectar sus propiedades de barrera y mecánicas (Cuq et al., 1996; Longares et al., 2004; Sobral, 2000). Actualmente no existe en la bibliografía información respecto de las propiedades mecánicas de películas basadas en HACS obtenidas mediante gelificación a baja temperatura a través de un pretratamiento alcalino del almidón.

El objetivo de este trabajo fue encontrar y fundamentar la relación entre las propiedades mecánicas de películas de HACS obtenidas mediante una técnica de disolución a baja temperatura con el espesor de la película.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de las películas

Para la elaboración de las películas se utilizó almidón de alta amilosa (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo., U.S.A.) con un contenido de amilosa del 70%. Se dispersó 1g de almidón en 20 mL de NaOH 0.125 N. La dispersión se mantuvo por 60 min en un agitador magnético y luego se gelatinizó a baño María a 85°C durante 10 min. Posteriormente se agregó el glicerol (Merck, Whitehouse Station, N.J., U.S.A.). El gel caliente se vierte en placas de Petri descartables. Las placas se ubican en una estufa con circulación de aire a 35-40°C hasta que las películas están secas. Luego se retiran las películas de las placas. Películas de diferentes espesores se obtienen mediante el vertido de diferentes cantidades de gel en las placas. El espesor de las películas se midió con un micrómetro electrónico (Fowler, Cole-Parmer Instrument Co.). El valor reportado es la media de 5 medidas. Los valores del espesor fueron verificados mediante SEM.

Difracción de Rayos X

Los espectros de rayos X se obtuvieron mediante un difractor Rigaku Denki D-Max IIC, usando radiación de Cu K α ($\lambda = 0.1542$ nm), 40KV y 20 mA en un rango angular de 3-40° con un paso de 0.02.

Microscopia Electrónica de Barrido (SEM)

La superficie y sección transversal de las películas se observaron con un microscopio electrónico de barrido JEOL JSM 6480 LV con un voltaje de aceleración de 15 kV. Para la observación de la sección transversal, las películas se criofracturaron usando N $_2$ líquido. Las películas se montaron sobre bronce y se recubrieron con oro-paladio.

Propiedades mecánicas

La determinación de las propiedades mecánicas de las películas se basó en la técnica ASTM D882-00, "Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting" (ASTM, 2001) mediante ensayos de tracción realizados con un texturómetro QTS Twenty Five (CNS Farnell, England). Las muestras se

cortaron en tiras de 25,4 mm de ancho y 80 mm de longitud. Los extremos de las tiras fueron montados sobre rectángulos de cartulina mediante cinta doble adhesiva para mejorar la sujeción de las mordazas. El área final expuesta fue de 50 mm x 25,4 mm. El texturómetro se utilizó en el modo tracción con una velocidad de separación de las mordazas de 20 mm/min. y una separación inicial de 50 mm. Para evaluar la influencia del espesor y el contenido de plastificante, las muestras fueron equilibradas durante una semana a 52%HR y 25°C, previo a ser ensayadas. Para conocer el efecto de la HR sobre las películas, las muestras se sometieron por una semana a ambientes con HR constante logrados con soluciones saturadas de diferentes sales (LiCl, CH₃COOK, MgCl₂, K₂CO₃, Mg(NO₃)₂, NaBr, NaCl, KCl). Los ensayos se realizaron por triplicado para cada muestra.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las películas preparadas con 30% de glicerol como plastificante fueron acondicionadas a 52% HR previo a los ensayos. En la Fig. 1 se presenta la variación de TS y %E con el espesor de las películas ensayadas. Se observó un aumento de TS con el espesor en el rango estudiado (30 a 100 μ m). Idealmente, en películas poliméricas de característica homogéneas, TS debe ser constante con el espesor de la película. Sin embargo, los ensayos muestran una importante dependencia de TS con el espesor. Este fenómeno puede explicarse en términos de la formación de la matriz polimérica en la etapa de secado de la suspensión. Al comienzo el gel comienza a deshidratarse y la primera capa que aparece en la interfase con el aire se contrae debido a la evaporación de agua.

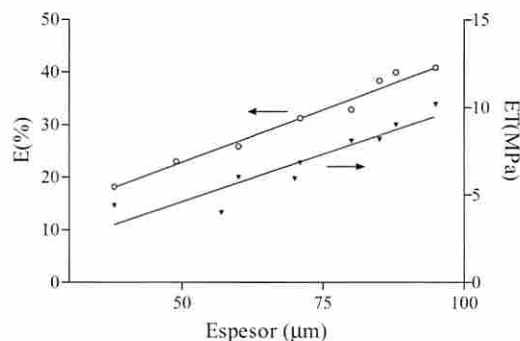


Figura 1. TS y %E de películas de HACs en función del espesor.

Observando la superficie de evaporación de las películas (Fig 2) puede verse una zona más homogénea y densa. En la primera etapa el agua se evapora rápidamente y la velocidad es controlada principalmente por el coeficiente de transferencia de masa externo. Una vez que se forma la estructura de la capa superficial en la superficie de la suspensión, la velocidad de secado es controlada principalmente por el fenómeno difusional a través de esa capa en la superficie de evaporación. La velocidad de evaporación disminuye y el tiempo necesario para completar el proceso aumenta a medida que aumenta el espesor. A medida que aumenta el tiempo necesario para la formación de la película, se obtiene un mejor arreglo molecular en la estructura polimérica y por lo tanto el grado de cristalinidad también aumenta.

La posibilidad de las cadenas de almidón de formar cristales depende de la movilidad de las cadenas durante el proceso de cristalización. Las películas gruesas requieren mayor tiempo de secado, entonces es mayor la posibilidad de reorganización de sus cadenas y como resultado es mayor su cristalinidad.

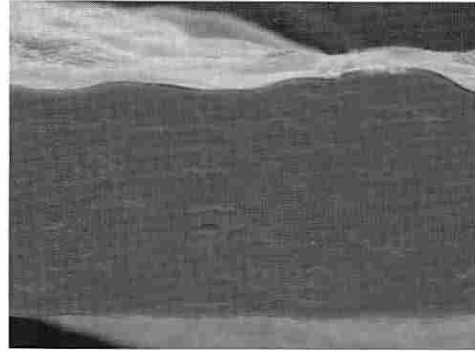


Figura 2. Microfotografías de la sección transversal de una película de HACs

Cuando la película es fina el proceso de evaporación es veloz y las moléculas de agua abandonan la suspensión rápidamente, y el proceso de contracción y deformación es al azar. La estructura polimérica resultante es principalmente amorfa y sus propiedades mecánicas corresponden a un materia gomoso con baja resistencia y flexibilidad. Este efecto puede verse claramente en la intensidad del pico correspondiente a $2\theta = 17^\circ$ en la Fig. 3. Bader y Goritz (1994a) y Rindlav et al. (1997) mostraron que el grado de cristalinidad de las películas de almidón dependía de la temperatura, humedad del aire y tiempo requerido para el secado. Esto concuerda con nuestros resultados ya que una película más gruesa requiere mayor tiempo de secado.

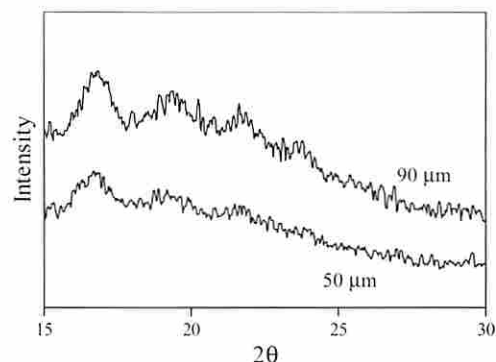


Figure 3. X-ray diffraction patterns of HACs films with 90 μ m (top) and 50 μ m (bottom) of film thickness.

Un aumento del grado de cristalinidad de la matriz polimérica está directamente relacionado a una mayor TS (van Soest et al., 1996; Flores et al., 2007). Como puede observarse en la Fig. 3, un aumento en el espesor de la película conduce a un aumento en la cristalinidad relativa, entonces, una relación directa entre TS y el espesor fue observada (Fig. 1). Sobral (2000) también publicó valores de TS que aumentaban con el espesor de las películas comestibles.

En la Fig. 1 se observa que %E de las películas de almidón aumenta linealmente con el espesor en el rango estudiado. En películas gruesas se logra una matriz más flexible debido probablemente a que estas películas tienen una mejor organización de las cadenas y un área de sección transversal mayor que permite mayor extensión que las películas finas. Entonces las películas finas alcanzan más rápidamente su límite de extensibilidad que las gruesas. Resultados similares fueron observados por Jansson y Thuvander (2004) en películas de almidón.

CONCLUSIONES

A medida que aumenta el espesor de las películas aumenta el tiempo de secado y por lo tanto el tiempo disponible para la reorganización de las cadenas de almidón dentro de la matriz de la película. Esto conduce a un aumento en la cristalinidad relativa de las películas, el cual es responsable de la mejora en las propiedades mecánicas de las mismas.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el apoyo económico del Consejo de Investigación de la Universidad Nacional de Salta (CIUNSA) y de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT). También la asistencia técnica del LASEM (Laboratorio de Microscopía Electrónica de Barrido, ANPCyT, CONICET, UNSA) y del Laboratorio de Difracción de rayos X (UNSA).

REFERENCIAS

- ASTM (American Society for the Testing of Materials). 2001. Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting. ASTM D882-91, ASTM, Philadelphia, PA.
- Bader, H.G., & Göritz, D. (1994a). Investigations on high amylose corn starch films. Part 1: Wide angle X-Ray scattering (WAXS). *Starch*, 46(16)229-232.
- Bader, H.G., & Göritz, D. (1994b). Investigations on high amylose corn starch films. Part 3: Stress-strain behavior. *Starch*, 46(16), 435-439.
- Chen, J., & Jane, J. (1994). Properties of granular cold-water-soluble starches prepared by alcoholic-alkaline treatments. *Cereal Chemistry*, 71(6), 623-626.
- Cuq, B., Gontard, N., Cuq, J.L., & Guilbert, S. (1996). Functional properties of myofibrillar protein-based biopackaging as affected by film thickness. *Journal of Food Science*, 61(3), 580-584.
- Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J.A., & Voilley, A. (1998). Edible films and coatings: Tomorrow's packaging: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38(4), 299-313.
- Flores, S., Famá, L., Rojas, A.M., Goyanes, S., & Gerschenson, L. (2007). Physical properties of tapioca-starch edible films: Influence of filmmaking and potassium sorbate. *Food Research International*, 40, 257-265.
- Guilbert, S. (1986). Technology and application of edible protective films. In "Food Packaging and Preservation. Theory and Practice" Ed. M. Mathlouthi. Elsevier Applied Sci. Pub. Co., London, England, pp 371-394.
- Jansson A., & Thuvander F. (2004). Influence of thickness on mechanical properties for starch films. *Carbohydrate Polymers*, 56, 499-503.
- Liu, Z., & Han, J.H. (2005). Film-forming characteristics of starches. *Journal of Food Science*, 70(1), E31-36.
- Longares, A., Monahan, F.J., O'Riordan, E.D., & O'Sullivan, M. (2004). Physical properties and sensory evaluation of WPI films of varying thickness. *LWT*, 37(5), 545-550.
- Lourdin, D., Coignard, L., Bizot, H., & Colonna, P. (1997). Influence of equilibrium relative humidity and plasticizer concentration on the water content and glass transition of starch materials. *Polymer*, 38(21), 5401-5406.
- Myllärinen, P., Partanen, R., Seppälä, J., & Forsell, P. (2002). Effect of glycerol on behaviour of amylose and amylopectin films. *Carbohydrate Polymers*, 50, 355-361.
- Rindlav-Westling, A., Hulleman, S.H.D. & Gatenholm, P. (1997). Formation of starch films with varying crystallinity. *Carbohydrate Polymers* 34, 25-30.
- Rindlav-Westling, A., Stading, M., Hermansson, A.M., & Gatenholm, P. (1998). Structure, mechanical and barrier properties of amylose and amylopectin films. *Carbohydrate Polymers* 36, 217-224.
- Sobral, P.J.D. (2000). Influência da espessura de biofilmes feitos a base de proteínas miofibrilares sobre suas propriedades funcionais. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 35(6), 1251-1259.
- Van Soest, J.J.G., Hulleman, S.H.D., de Wit, D., & Vliegthart, J.F.G. (1996b). Change in the mechanical properties of thermoplastic potato starch in relation with changes in B-type crystallinity. *Carbohydrate Polymers* 29, 225-232.
- Zhang, Y., & Han, J.H. (2006). Plasticization of pea starch films with monosaccharides and polyols. *Journal of Food Science*, 71(6), E253-261.

INFLUENCIA DEL PLASTIFICANTE Y LA HUMEDAD RELATIVA SOBRE LAS PROPIEDADES MECANICAS DE PELICULAS DE ALMIDON

M.A. Bertuzzi*, M. Armada, J.C. Gottifredi

Instituto de Investigaciones para la Industria Química (INIQUI-CONICET)

Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Salta

Buenos Aires 177, A4402FDC - SALTA - ARGENTINA

E-mail: bertuzzi@unsa.edu.ar

Palabras clave: Tecnología, películas de almidón, plastificante, propiedades mecánicas, cristalinidad.

RESUMEN

En este trabajo se presenta una explicación detallada de la influencia del contenido de plastificante y la humedad relativa del ambiente sobre la estructura y las propiedades mecánicas de películas de almidón de alta amilosa (HACS). El esfuerzo de tracción (TS) y el porcentaje de elongación de rotura (%E) de las películas se obtuvo mediante ensayos de tracción. Las películas mostraron un incremento del %E y disminución de TS con el aumento del contenido de plastificante. A altas concentraciones de glicerol se detectaron fisuras en las películas secas, probablemente debido a una separación de fases (almidón-glicerol). La cristalinidad de las películas está relacionada a la movilidad de las cadenas durante el proceso de secado, entonces la cristalinidad aumentó con el contenido de glicerol. Las propiedades mecánicas fueron fuertemente afectadas por el contenido de humedad debido a la naturaleza hidrofílica del almidón. La influencia del contenido de humedad sobre TS fue similar a la plastificación con glicerol debido al aumento de movilidad molecular ocasionado por el agua. El %E alcanza un máximo para HR del 45%. La caída final en %E se debe al ablandamiento de la estructura de la película debido al aumento exponencial en la absorción de agua para altas HR.

INTRODUCCIÓN

Existe un notable interés en la utilización de recursos renovables para la elaboración de películas y envases para la protección de alimentos. Los polisacáridos tales como el almidón, la celulosa y sus derivados y las gomas vegetales están siendo estudiadas como materiales para la elaboración de películas y recubrimientos comestibles para el envasado y preservación de alimentos (Debeaufort et al., 1998; Guilbert, 1986). Desde 1950 se han publicado estudios sobre películas obtenidas a partir de soluciones o geles de almidón (Liu y Han, 2005; Lourdin et al., 1997; Zhang y Han, 2006). El almidón de alta amilosa (HACS) permite obtener películas resistentes y flexibles debido a la cristalinización de la amilosa (Myllärinen et al.; van Soes et al., 1996). Las películas basadas en amilosa o HACS se obtienen por lo general mediante disolución a muy alta temperatura (120-155°C) (Bader y Göritz, 1994a,b; Liu y Han, 2005; Rindlav-Westling, et al., 1998). Por otra parte, se sabe que un tratamiento alcalino del HACS favorece su disolución y la expansión de las cadenas de amilosa debido a las fuerzas de repulsión ocasionada por las cargas (Chen y Jane, 1994), situación que podría usarse para facilitar la formación de películas. Liu y Han (2005) estudiaron el proceso de formación de la película a partir de soluciones de almidón y encontraron que tiene tres pasos, la formación de hélices (durante el enfriamiento), la agregación o gelación y finalmente, la reorganización de agregados. Los últimos dos pasos ocurren durante la deshidratación. Las hélices de almidón que se empaquetan en arreglos regulares determinan la cristalinidad de las películas que puede ser evaluada mediante difracción de rayos X. Bader y Goritz (1994a) y Rindlav-Westling et al., (1997) mostraron que la cristalinidad de las películas de almidón dependía de la temperatura, la humedad del aire y el tiempo requerido para el secado desde gel a película.

Una adecuada resistencia mecánica asegura la integridad de la película, reduce la existencia de defectos (poros, grietas) que perjudican sus funciones de barrera y asegura resistencia a la abrasión o rotura. Una adecuada flexibilidad garantiza suficiente plasticidad para adaptarse a las posibles deformaciones del alimento sin romperse. Las propiedades mecánicas de las películas y recubrimientos comestibles dependen del tipo de material formador de película y de su cohesión (Guilbert, 1986). La inserción de moléculas de

plastificante en la matriz polimérica modifica la organización y la energía involucrada en la estructura tridimensional del polímero. La adición de plastificante reduce la resistencia mecánica pero incrementa la elongación de las películas comestibles (Ryu et al., 2002). El plastificante debe ser compatible con el polímero para una distribución homogénea en la estructura tridimensional de la película. Su elección puede afectar las propiedades mecánicas de la película. Algunos monosacáridos y polioles han sido usados como plastificantes de películas de almidón (Zhang y Han, 2006). Jangchud y Chinnan (1999) encontraron que el glicerol es uno de los mejores plastificantes para los polímeros solubles en agua. Rindlav-Westling et al. (1998) mostraron que la resistencia mecánica de películas plastificadas con glicerol dependía de la cristalinidad relativa en las películas de amilopectina y de la microestructura en películas de amilosa. La cristalinidad relativa en películas de amilopectina aumentaba con el aumento de la HR del aire durante el secado, mientras que las películas sin plastificante se mantenían amorfas independientemente de la HR. El agregado de glicerol facilita la movilidad de las cadenas y una mayor HR del aire durante la formación de la película conduce a un mayor tiempo de cristalización durante el proceso de secado.

El agua es el más común de los plastificantes y es muy difícil regular su sorción en películas hidrofílicas. La adsorción de vapor de agua por parte de los materiales secos involucra la unión de la molécula de agua a sitios hidrofílicos específicos tales como grupos carboxilos, oxidrilos, aminos, a bajas actividades de agua (a_w). Chang et al., (2000) observaron que el agua juega un papel dual, como plastificante y antiplastificante dependiendo de las propiedades físicas medidas. Un efecto antiplastificante se presentó sobre TS para $a_w < 0.4$. A mayores a_w , la adsorción multicapa es acompañada por hinchado y cambios conformacionales en la estructura macromolecular (Bader y Göritz 1994b).

Actualmente no existe en la bibliografía información respecto de las propiedades mecánicas de películas basadas en HACS obtenidas mediante gelificación a baja temperatura a través de un pretratamiento alcalino del almidón.

El objetivo de este trabajo fue encontrar y fundamentar la relación entre las propiedades mecánicas de películas de HACS obtenidas mediante una técnica de disolución a baja temperatura con la concentración de plastificante y la actividad de agua de la película.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de las películas

Para la elaboración de las películas se utilizó almidón de alta amilosa (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo., U.S.A.) con un contenido de amilosa del 70%. Se dispersó 1g de almidón en 20 mL de NaOH 0.125 N. La dispersión se mantuvo por 60 min en un agitador magnético y luego se gelatinizó a baño María a 85°C durante 10 min. Posteriormente se agregó el glicerol (Merck, Whitehouse Station, N.J., U.S.A.). El gel caliente se vierte en placas de Petri descartables. Las placas se ubican en una estufa con circulación de aire a 35-40°C hasta que las películas están secas. Luego se retiran las películas de las placas. Películas de diferentes espesores se obtienen mediante el vertido de diferentes cantidades de gel en las placas. El espesor de las películas se midió con un micrómetro electrónico (Fowler, Cole-Parmer Instrument Co.). El valor reportado es la media de 5 medidas. Los valores del espesor fueron verificados mediante SEM.

Difracción de rayos X

Los espectros de rayos X se obtuvieron mediante un difractor Rigaku Denki D-Max IIC, usando radiación de Cu

K_{α} ($\lambda = 0.1542\text{nm}$), 40KV y 20 mA en un rango angular de 3-40° con un paso de 0.02.

Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La superficie y sección transversal de las películas se observaron con un microscopio electrónico de barrido JEOL JSM 6480 LV con un voltaje de aceleración de 15 kV. Para la observación de la sección transversal, las películas se criofracturaron usando N₂ líquido. Las películas se montaron sobre bronce y se recubrieron con oro-paladio.

Propiedades mecánicas

La determinación de las propiedades mecánicas de las películas se basó en la técnica ASTM D882-00, "Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting" (ASTM, 2001) mediante ensayos de tracción realizados con un texturómetro QTS Twenty Five (CNS Farnell, England). Las muestras se cortaron en tiras de 25,4 mm de ancho y 80 mm de longitud. Los extremos de las tiras fueron montados sobre rectángulos de cartulina mediante cinta doble adhesiva para mejorar la sujeción de las mordazas. El área final expuesta fue de 50 mm x 25,4 mm. El texturómetro se utilizó en el modo tracción con una velocidad de separación de las mordazas de 20 mm/min. y una separación inicial de 50 mm. Para evaluar la influencia del espesor y el contenido de plastificante, las muestras fueron equilibradas durante una semana a 52%HR y 25°C. previo a ser ensayadas. Para conocer el efecto de la HR sobre las películas, las muestras se sometieron por una semana a ambientes con HR constante logrados con soluciones saturadas de diferentes sales (LiCl, CH₃COOK, MgCl₂, K₂CO₃, Mg(NO₃)₂, NaBr, NaCl, KCl). Los ensayos se realizaron por triplicado para cada muestra.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Plastificante

La Fig.1 muestra las curvas de esfuerzo-deformación de películas de HACS plastificadas con diferente concentración de glicerol (g glicerol/g HACS). Estas curvas son típicas de materiales termoplásticos.

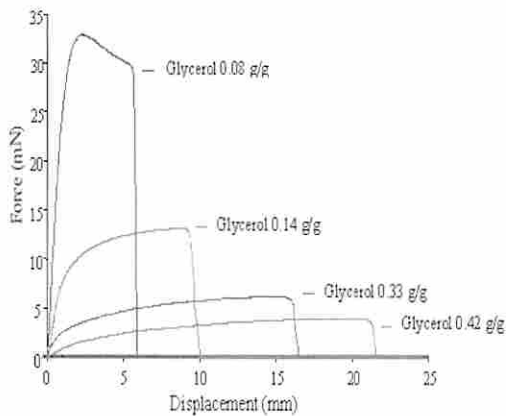


Figura 1. Curva esfuerzo-deformación de películas de HACS con diferentes contenidos de glicerol.

Al comienzo el esfuerzo aumenta rápidamente y proporcionalmente a la deformación (zona de deformación elástica). La pendiente de esta recta se conoce como Modulo Elástico y representa la dureza del material. Cuando se alcanza el límite elástico, comienza el flujo plástico y la deformación ya no es proporcional al esfuerzo, ni reversible (zona de flujo plástico). El flujo plástico continúa hasta el punto de rotura de la película. La curva correspondiente a 8% de glicerol muestra TS alto y %E bajo. El alto valor del TS puede atribuirse a los numerosos puentes hidrógenos entre las cadenas de almidón que contribuyen a la cohesividad de la estructura dando además baja flexibilidad en la película. Cuando se agrega glicerol en la red del almidón, existe una competencia por las uniones puente hidrógeno y como resultado se reduce las interacciones directas entre cadenas de almidón debido a la formación de puentes hidrógeno con el glicerol, dando a las cadenas de almidón más libertad de movimiento. Al aumentar el contenido de glicerol disminuye la deformación elástica y la rigidez o dureza de la película (pendiente de la zona elástica), se ablanda la estructura

y se produce el cambio a flujo plástico. La relativamente grande región de flujo plástico es una prueba que la película posee alta plasticidad. Las películas de almidón resultan más flexibles a medida que se aumenta la concentración de plastificante, debido a una mayor posibilidad de desplazamiento de las cadenas.

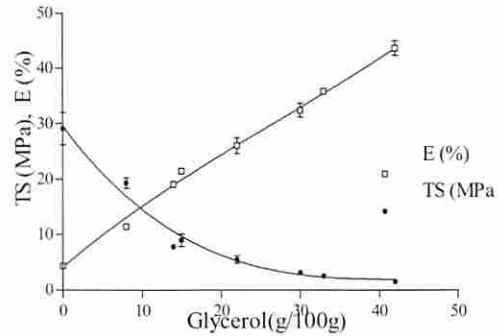


Figura 2. TS y %E de películas de HACS en función del contenido de glicerol.

En la Fig.2 se observa un aumento lineal de %E con el contenido de glicerol en el rango estudiado, mientras que TS muestra una disminución sustancial al aumentar la cantidad de plastificante, resultados que concuerdan con los obtenidos por otros autores (Arvanitoyannis y Biliaderis, 1998; Arvanitoyannis et al., 1998; Myllärinen et al., 2002; Ryu et al., 2002). Myllärinen et al. (2002) y Zhang y Han (2006) obtuvieron películas de HACS mediante el método tradicional con condiciones de altas temperaturas y presiones e informaron valores de TS mayores y %E menores que los observados en la Fig.2. Esto puede deberse a que en medio alcalino las moléculas exhiben una configuración más extendida que favorece la formación de zonas cristalinas mejorando algunas propiedades mecánicas como la elongación. Sin embargo, la escisión de las cadenas de almidón inducida por el medio alcalino va en detrimento de la resistencia.

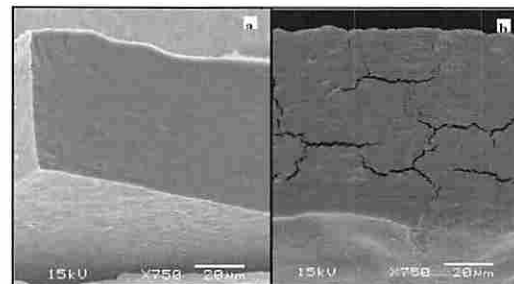


Figura 3. Microfotografías de la sección transversal de películas de HACS sin plastificante (a) y 45% de glicerol (b).

Algunos estudios recientes sugieren que en las soluciones de almidón formadoras de películas a temperatura ambiente se produce una separación de fases porque la cristalización de la amilosa ocurre más rápidamente que la reorganización y cristalización de la amilopeptina. Sin embargo, ambas fases están integradas por interacciones intermoleculares entre la amilosa y la amilopeptina (Liu y Han, 2005). La Fig 3a. muestra la sección transversal de una película de HACS sin plastificante. Las películas muestran una superficie suave y sin poros o grietas al igual que el corte transversal, de acuerdo a lo observado mediante SEM.

Mediante métodos dieléctricos, técnicas de calorimetría y reología se mostró que a pesar que el glicerol es un plastificante efectivo para la amilosa, las mezclas amilosa-glicerol son solo parcialmente miscibles (Moates et al., 2001). Esta puede ser la razón por la cual las películas elaboradas con alto contenido de glicerol (45%) presentan fisuras en su estructura cuando son observadas mediante SEM (Fig. 3b.).

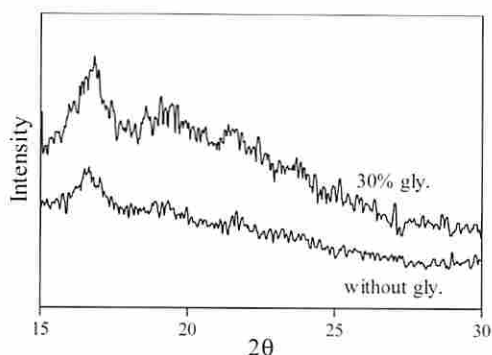


Figura 4. Espectros de difracción de rayos X de películas de HACS con y sin plastificante.

En la Fig. 4 se muestran los difractogramas de rayos X de películas elaboradas con y sin glicerol. El plastificante parece facilitar el crecimiento de los cristales y la recristalización debido a la mayor movilidad de las cadenas poliméricas, y la mayor posibilidad de alineamiento de las cadenas durante el proceso de secado y almacenamiento. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Rindlav-Westling et al. (1998) y por van Soest y Vliegthart (1997).

Humedad Relativa

El sistema almidón-plastificante-agua fue más sensible a la humedad ambiente cuando el contenido de glicerol fue alto, posiblemente debido a que se originan puentes hidrógeno entre el plastificante y el agua. La concentración de glicerol se mantuvo en 30% para determinar la influencia de la humedad relativa ambiente sobre las propiedades mecánicas de las películas. Las isoterma de sorción de vapor de agua a 30°C de películas de HACS plastificadas con 20, 40 y 60% de glicerol fueron publicadas en trabajos previos (Bertuzzi et al., 2007). Estas curvas presentan características típicas de los polímeros sensibles al agua, presentando una pendiente suave a bajas a_w , aumentando exponencialmente a valores altos (encima de 0.6).

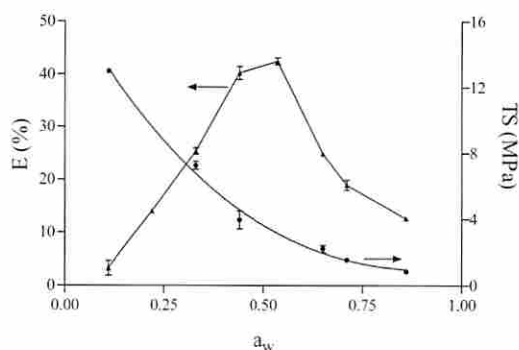


Figura 5. TS y %E de películas de HACS en función de a_w .

La estructura de la película se modifica apreciablemente en estas condiciones ya que se produce hinchado, se abren nuevos sitios para la sorción de agua lo que ocasiona un efecto importante sobre las propiedades mecánicas. A bajas a_w (0.11) la fuerza aumenta hasta la rotura de la muestra prácticamente sin deformación plástica. Estas películas presentan alto TS y muy bajo %E, lo cual es característico de materiales frágiles. A este valor de a_w el contenido de humedad de la película es menor al 2% de acuerdo a la isoterma de sorción (Bertuzzi et al., 2007). Películas con mayor hidratación dan curvas de esfuerzo deformación no lineales, o sea presentan comportamiento viscoelástico. El efecto de la variación de a_w sobre TS y %E se presenta en la Fig. 5.

Un incremento en la a_w induce un disminución exponencial de TS en el rango de a_w estudiado. Para valores bajos de a_w , el %E aumenta marcadamente con el incremento de la HR alcanzándose un valor máximo para a_w aproximado de 0.5. A

partir de allí %E cae notoriamente al aumentar a_w , ya que como se mencionó antes para a_w por encima de 0.6, el contenido de humedad de la película aumenta exponencialmente, las moléculas de agua interaccionan con las cadenas de almidón desarrollando uniones polímero-agua en detrimento de las polímero-polímero, reduciendo la densidad de las interacciones intermoleculares. Entonces las cadenas de almidón aumentan su movilidad y la red pierde cohesividad y elasticidad (Fig. 5.). Chang et al. (2000) y Nicholls et al. (1995) observaron comportamientos similares en películas de almidón.

CONCLUSIONES

Debido al incremento en la movilidad molecular en la red de almidón, el glicerol plastifica la estructura de la película ocasionando una disminución de TS y un incremento en %E. Se considera que concentraciones de glicerol entre 15 y 30% permiten obtener películas con propiedades mecánicas apropiadas. Concentraciones mayores conducen a separación de fases debido a la miscibilidad parcial entre el almidón y el glicerol apareciendo fisuras en la estructura de la película. La naturaleza altamente hidrofílica del almidón produce una brusca caída de %E para a_w mayores de 0.6, debido a que la cantidad de agua absorbida por la película aumenta exponencialmente en esa zona ocasionando cambios importantes en la estructura.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el apoyo económico del Consejo de Investigación de la Universidad Nacional de Salta (CIUNSA) y de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT). También la asistencia técnica del LASEM (Laboratorio de Microscopía Electrónica de Barrido, ANPCyT, CONICET, UNSA) y del Laboratorio de Difracción de Rayos X (UNSA).

REFERENCIAS

- Arvanitoyannis I, Biliaderis CG (1998). Physical properties of polyol-plasticized edible films made from sodium caseinate and soluble starch blends. *Food Chemistry* 62(3), 333-342.
- Arvanitoyannis I, Nakayama A, Aiba S (1998). Edible films made from hydroxypropyl starch and gelatin and plasticized by polyols and water. *Carbohydrate Polymers* 36, 105-109.
- ASTM (American Society for the Testing of Materials). 2001. Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting. ASTM D882-91. ASTM, Philadelphia, PA.
- Bader HG, Göritz D (1994a). Investigations on high amylose corn starch films. Part 1: Wide angle X-Ray scattering (WAXS). *Starch*, 46(16)229-232.
- Bader HG, Göritz D (1994b). Investigations on high amylose corn starch films. Part 2: Water vapor sorption. *Starch*, 46(7), 249-252.
- Bertuzzi MA, Armada M, Gottifredi JC (2007). Physicochemical characterization of starch based films. *Journal of Food Engineering* 82 (1), 17-25.
- Chang YP, Cheah PB, Seow CG (2000). Plasticizing-antiplasticizing effects of water on physical properties of tapioca starch films in the glassy state. *Journal of Food Science*, 65(3), 445-451.
- Chen J., Jane J. (1994). Properties of granular cold-water-soluble starches prepared by alcoholic-alkaline treatments. *Cereal Chemistry*, 71(6), 623-626.
- Debeaufort F., Quezada-Gallo J.A., Voilley A. (1998). Edible films and coatings: Tomorrow's packaging: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38(4), 299-313.
- Guilbert S. (1986). Technology and application of edible protective films. In "Food Packaging and Preservation. Theory and Practice" Ed. M. Mathlouthi. Elsevier Applied Sci. Pub. Co., London, England, pp 371-394.
- Jangchud A, Chinnam MS. (1999). Properties of peanut protein film: Sorption isotherm and plasticizer effect. *LWT*, 32, 89-94.
- Liu Z., Han JH. (2005). Film-forming characteristics of starches. *Journal of Food Science*, 70(1), E31-36.
- Lourdin D, Coignard L, Bizot H, Colonna P (1997). Influence of equilibrium relative humidity and plasticizer concentration on the water content and glass transition of starch materials. *Polymer*, 38(21), 5401-5406.
- Moates GK, Noel TR, Parker R, Ring SG (2001). Dynamic mechanical and dielectric characterization of amylose-glycerol films. *Carbohydrate Polymers*, 44, 247-253.
- Myllyläinen P., Partanen R., Seppälä J., Forsell P. (2002). Effect of glycerol on behaviour of amylose and amylopectin films. *Carbohydrate Polymers*, 50, 355-361.
- Nicholls R.J., Appelqvist I.A.M., Davies A.P., Ingman S.J., Lillford P.J. (1995). Glass transitions and the fracture behavior of gluten and starches within the glassy state. *Journal of Cereal Science*, 21, 25-36.
- Rindlav-Westling A., Hulleman SHD, Gatenholm P (1997). Formation of starch films with varying crystallinity. *Carbohydrate Polymers* 34, 25-30.
- Rindlav-Westling A, Stading M, Hermansson AM, Gatenholm P (1998). Structure, mechanical and barrier properties of amylose and amylopectin films. *Carbohydrate Polymers* 36, 217-224.
- Ryu SY, Rhim JW, Roh HJ, Kim SS. (2002). Preparation and physical properties of zein-coated high-amylose corn starch film. *LWT*, 35, 680-686.
- Van Soest JG, Vliegthart JFG. (1997). Crystallinity in starch plastics: consequences for material properties. *Trends in Biotechnology*, 15(6), 208-213.
- Zhang Y, Han JH (2006). Plasticization of pea starch films with monosaccharide and polyols. *Journal of Food Science*, 71(6), E253-261.

EFFECTO DE LA CONGELACIÓN-DESCONGELACIÓN DE ENVASE AL VACÍO TIPO POUCH PARA CORTE DE BOVINO EVALUADO POR MDSC.

Meléndez Pérez R., Arjona Román J. L., Zambrano Zaragoza M. de la L. y López Aguado Parrales L. E.

Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán
Cátedra de Ingeniería Alimentaria, Av. 1° de Mayo s/n, Col. Atlanta,
Cuautitlán Izcalli, Estado de México, C.P. 54740.

Palabras clave: envases, carne, congelación, descongelación, MDSC

RESUMEN

Al diseñar un sistema de envasado aplicado a alimentos, es importante considerar todos aquellos factores que determinarán la vida útil del producto, preservando sus atributos de calidad. Los métodos de conservación que implican bajas temperaturas, en ocasiones generan efectos indeseables en los alimentos, es por ello, que para una mejor preservación, surgen nuevas técnicas y materiales para el envasado que en combinación con inyección de gases y/o el almacenamiento a bajas temperaturas son capaces de retardar cambios cinéticos en el alimento.

Una de las técnicas aplicadas para la conservación de la carne es la congelación, la desventaja principal en su uso es el daño en la estructura debida al tamaño de los cristales de hielo, que afectan las propiedades de las membranas celulares y también la desnaturalización de proteínas, propiciando un aumento en la cantidad de jugos drenados o exudados al ser descongelado el producto.

En éste trabajo se evaluó por MDSC, los cambios en el material de envase para cortes de carne de bovino (*semitendinoso*) a vacío; congelada, almacenada por periodos variables y utilizando 3 métodos de descongelación para comparar sus comportamientos. En resultado el componente mayoritario del laminado tipo Pouch es polietileno, que presenta dos transiciones de primer orden a los 120 y 221 °C y entalpías correspondientes a 72.97 J/g y 10.72 J/g. Para los tres métodos de descongelación, no se presentan diferencias notorias salvo en el caso de descongelación por inmersión en agua.

INTRODUCCIÓN

Al aplicar la congelación en cortes de carne envasadas al vacío habría que recordar que este es un proceso en que la cristalización del agua se realiza en el tejido muscular, incluyendo su consecutivo proceso de nucleación y crecimiento de cristales. Generalmente cuando el agua es congelada a presión atmosférica su volumen se incrementa en 9% a 0 °C y alrededor de 13% a -20 °C causando daño de tejidos durante la congelación ya que se forman cristales intra y extra celulares (Bing Li, Da-Wen Sun., 2001; Gomez & Calvelo, 1982; Martino & Zaritzky, 1988).

En congelación rápida el hielo puede ser formado intracelularmente, afectando la estructura interna de la carne. (Molina-García, *et al* 2004).

El daño en congelación se refiere a los cambios irreversibles en el tejido debidos al proceso de congelación mismo, los cuales se manifiestan después de descongelar el producto. Este daño se da como consecuencia de diferentes procesos o mecanismos, como podrían ser, el daño por frío, el daño por concentración de solutos, el daño por deshidratación y el daño debido a la forma de los cristales. (Mallet C.P., *et al* 1993; Spiau, J., 1981).

De igual manera, el almacenamiento congelado tiene gran influencia sobre los atributos de calidad de la carne tales como pérdida por descongelación, color y terneza. Durante el almacenamiento prolongado se han observado niveles de efectos sugeridos como consecuencia de la recrystalización de pequeños cristales de hielo en cristales de mayor tamaño. (Meléndez P. R., 2002; Mortensen M., *et al* 2005).

De cualquier forma la relación entre calidad del alimento y tiempo de congelación ha sido extensamente reportado en la literatura: toda la ruptura celular y consecuentemente todo el daño mecánico y en textura se presenta durante la transición de fase de agua a hielo. (Urrutia-Beneet, *et al* 2005).

El envasado a vacío es un método importante a nivel industrial, ya que es considerado uno de los más eficaces para mantener la calidad de productos alimenticios, con una barrera apropiada contra el oxígeno, excluyendo el aire, inhibiendo el crecimiento microbiano y prolongando la vida útil. El envasado a vacío produce una presión diferencial entre el interior y el exterior del envase, requiriéndose como mínimo 610 mm de Hg. de presión; la presión parcial de la atmósfera del interior de los envases determina el tipo de microorganismos que se desarrollan sobre el alimento, debido a la relación que guarda la presión con la temperatura. Cabe mencionar que el metabolismo microbiano, a su vez, es responsable de modificar la atmósfera del interior del envase. (Aksu, Kaya, Oekerman, 2005).

Actualmente los métodos de envasado cobran gran importancia, ya que la eficacia de este tipo de materiales se encuentra sujeta a propiedades inherentes al material, tales como hermeticidad, resistencia mecánica y térmica principalmente, es por ello, que para determinar la funcionalidad de un envase, se requiere de la realización de ciertos ensayos preliminares que permitan simular el comportamiento de éste una vez que haya sido incorporada la materia prima a conservar; éste tipo de ensayos son considerados como pruebas de control, los cuales determinarán si la película flexible es o no apta para resistir a las condiciones mecánicas y de almacenamiento por las cuales transitará a lo largo de la cadena de comercialización, sin embargo, los estudios realizados a envases se dirigen principalmente a los cambios que ocurren en los polímeros cuando estos son calentados. <http://www.quiminet.com>.

Los polímeros como polietileno de baja media y alta densidad son ampliamente usados en diferentes aplicaciones de envase en la forma de películas flexibles y laminados para bolsas, y como recipientes rígidos o semirígidos. (Price, Reading, *et al* 1999). Es conocido que el tipo de polietileno utilizado en películas es afectado en sus propiedades por los procesos de conservación; sin embargo, poco ha sido estudiado para el caso de sus comportamiento al efecto de las bajas temperaturas.

En este sentido, técnicas analíticas han sido viables para proporcionar un perfil promedio de las propiedades de una muestra como la Resonancia Magnética Nuclear y la Calorimetría Diferencial de Barrido.

Para el envasado de carne a vacío, regularmente se emplean películas retractiles tales como poliestireno, polietileno de baja densidad, polietileno de alta densidad, polipropileno, cloruro de polivinilo, acetato de etileno, o bien, una mezcla de éstos. Dentro de las características que debe reunir un material plástico destinado al envasado es necesario considerar las siguientes propiedades: permeabilidad al oxígeno y al vapor de agua, hermeticidad, resistencia mecánica y resistencia térmica.

Para determinar las limitaciones del envasado, se encuentran las propiedades térmicas del material, las cuales son evaluadas por medio de análisis térmicos por calorimetría diferencial de barrido modulada (MDSC), básicamente para determinar temperaturas de transición y temperaturas de cristalización y fusión del material en cuestión. (Solariski, Ferreira, y Devaux, 2005).

En función a la resistencia térmica de materiales, se han diseñado materiales flexibles que ofrecen resistencia al calentamiento a altas temperaturas, éstos materiales plásticos son llamados envases tipo "pouch", regularmente son películas de monocapa y en algunos casos multicapas, estructuradas a base de poliestireno y en su mayoría se emplean para la cocción de productos en microondas aunque poco es conocido sobre su comportamiento al ser utilizados a bajas temperaturas como la congelación.

La industria de alimentos en su mayoría, elabora productos congelados, y estos últimos, eventualmente deben ser descongelados previo consumo. El proceso de descongelación ocasiona alteraciones observables por el consumidor. (Cleland A.C., 1990).

En el caso de la carne en descongelación presentará disminución de características específicas como pérdida de jugos por exudación. Los exudados o fluidos en la descongelación contienen, entre otros componentes a proteínas, péptidos, aminoácidos, ácido láctico, purinas, vitaminas del complejo B así como, algunas sales que son algunos de los constituyentes de estos exudados y que de una u otra forma estarán en contacto íntimo y en interacción continua con la pared interna del envase que lo contiene. (Instituto Internacional del Frío, 1990, Mortensen, *et al* 2005). Estas interacciones requieren ser profundizadas en su conocimiento como un prerrequisito para el establecimiento de directrices en la optimización de condiciones de almacenamiento y permitan inferir en los posibles cambios que se darán por la interacción de las mismas sobre la estructura del envase a través del análisis térmico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para determinar el comportamiento de una película flexible multicapa basada en sus exteriores con un tipo de polietileno, se utilizó carne fresca proveniente del mismo proveedor, con 48 h después de la matanza de la raza Suizo Cebú, con una edad de 1 año 8 meses y peso de la canal de 350 Kg. El corte fue cuete de bovino (semitendinosus), al cual se les determinó el pH, como parámetro de referencia con un mínimo de 5 repeticiones.

Se congelaron 15 cortes de peso aproximado de 200 g en túnel tipo Blast Freezer con velocidad de aire de 4-5 m/s y temperatura de -35 °C. Los cortes se envasaron en bolsas cuyas dimensiones fueron de 18 x 25 cm, en una unidad al vacío VC-999 a condiciones de vacío y tiempo de sellado máximo recomendado.

Se analizaron por triplicado los perfiles térmicos en un MDSC de TA Instruments modelo 2920 con sistema de enfriamiento mecánico RCS (Flujo de calor total, Flujo de calor no reversible y el Cp, todas con respecto a la Temperatura), para poder identificar las transiciones en calentamiento de las muestras en un intervalo de -60 °C a 300 °C después de cada tratamiento de descongelación (Temperatura ambiente, de refrigeración y descongelada por inmersión en agua). El peso en promedio de las muestras fue de 3, 23 mg con C.V. de 4,7 %.

Las condiciones de calibración del MDSC fueron: constante de celda de 1.0908, temperatura a tres puntos con Indio, agua tipo HPLC y Hg, constante de capacidad calorífica con zafiro de 1.1724. La experimentación se realizó en ambiente de nitrógeno a 60 ml/ min.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las películas flexibles provenientes de la descongelación de las muestras fueron evaluadas por análisis térmico y en la figura 1 se presenta el gráfico comparativo de flujo de calor total que es la suma de los eventos térmicos reversibles y no reversibles que ocurren en la muestra y es calculado como un promedio de la señal correspondiente al flujo de calor modulado mediante un análisis de la transformada de Fourier en el software de Universal Analysis. Los requerimientos energéticos para las transiciones observadas en el material, corresponden a 72.97 J/g y 10.72 J/g. El valor mayor de entalpía de fusión representa la fusión del polietileno, el cual compone mayoritariamente la película de envase, esto explica que la segunda transición requiera de un valor entálpico más bajo, siendo este cambio la transición de una capa de poliamida (nylon) presente en la muestra, considerado también como polímero termoplástico con puntos de fusión a temperaturas que van desde 200° C hasta 300° C.

Para las muestras analizadas, presentadas en la figura 2, correspondiente a la comparación del Cp reversible para las muestras en cuestión, en que para la capacidad calorífica se hace más visible la tendencia de los cambios más significativos en éstas y que ocurren en los intervalos, 100° C a 150° C y de 200° C a 250° C, mismos donde tienen lugar las principales

señales endotérmicas en la curva de flujo de calor total, por ello, éstos cambios en capacidad calorífica son congruentes para las tres muestras evaluadas, respecto a los valores obtenidos, también es posible decir, que no varían considerablemente, esto se aprecia directamente en la figura 2, el valor más alto que se da para las tres muestras ésta dado de 4 a 4.25 J/ g ° C, comparado con el Cp que presentó el material antes del proceso de congelación-envasado el valor no se modifica drásticamente

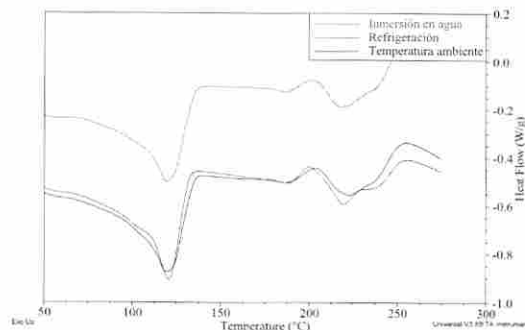


Figura 1. Comparativo del Flujo de Calor Total de las muestras descongeladas por diferentes métodos.

El comportamiento térmico presenta una tendencia muy similar entre los tratamientos, sin embargo, en las muestras descongeladas por inmersión en agua se percibe un desfase en el comportamiento que podría ser atribuido a una modificación estructural del material por efecto de la interacción con los fluidos exudados.

En el flujo de calor reversible, tiene un significado termodinámico relacionado con el Cp, depende de la velocidad de calentamiento y es calculado por la conversión de la capacidad calorífica medida dentro de la señal del flujo de calor.

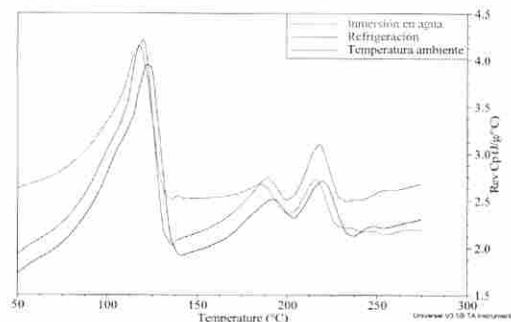


Figura 2. Comportamiento comparativo de Capacidad Calorífica entre muestras de envase tipo pouch descongeladas.

En la figura 3, se indican los perfiles térmicos correspondientes a las muestras de envase tipo Pouch comparadas al perfil para envase tipo Ziplock, observándose la similitud en la presencia de endotermas para el mismo intervalo de temperaturas con transiciones de primer orden similares y correspondientes a la fusión del polietileno como parte de la estructura del envase. La diferencia mas importante se indica a temperaturas mayores a los 200° C en que el envase tipo Ziplock está conformado únicamente por un tipo de Polietileno no siendo así, para el tipo pouch con estructura laminada con caras internas y externas de polietileno y un tipo de poliamida central.

En la figura 4, se muestra el comparativo de capacidad calorífica para ambas muestras con valores cercanos a 5 J/ g ° C para el tipo Ziplock en la zona de fusión y de 2.8 J/ g ° C para el tipo pouch, este con variaciones continuas en el intervalo de 150 a 250 y sensiblemente constantes para el tipo Ziplock.

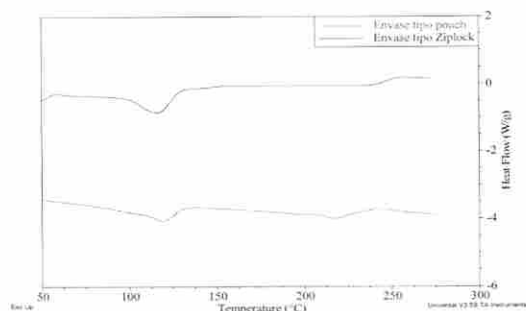


Figura 3. Comparativo del flujo de calor Total entre envases tipo Ziplock y tipo Pouch

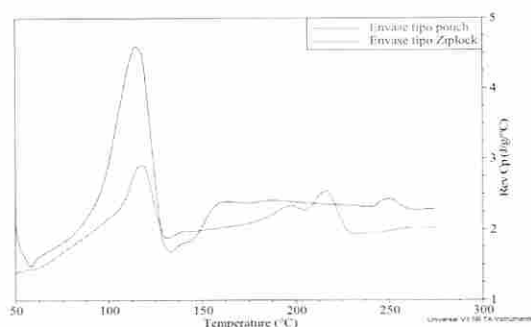


Figura 4. Comparativo de Capacidad calorífica de muestras de envase tipo Ziplock y tipo Pouch.

CONCLUSIONES.

De estos primeros resultados es observable a partir de los gráficos comparativos entre envases tipo Ziplock estructurado básicamente de polietileno y tipo Pouch como un laminado de alta barrera para aplicaciones en vacío, en que el constituyente mayoritario es polietileno para la pared externa imprimible y la cara interna de sellado, con un material central posiblemente Nylon por la transición de primer orden en el intervalo de 200 a 250° C. En relación a las técnicas para la descongelación por inmersión en agua a temperatura ambiente, refrigeración y únicamente a temperatura ambiente, el flujo de calor total no presenta diferencias notorias en los perfiles obtenidos con endotermas y transiciones similares sin embargo, los perfiles para capacidad calorífica representativa de cambios estructurales del material, si indican diferencias en las áreas bajo la curva en el intervalo de 50 a 150 ° C y un comportamiento mas estable en el Cp de 150 a 200° C para la descongelación por inmersión en agua.

Resulta evidente que el análisis térmico por MDSC brinda información interesante para establecer características de aptitud para materiales de envase en condiciones de bajas temperaturas sin embargo, requiere de otras técnicas especializadas para confirmar en particular, los posibles cambios estructurales por efecto de cambios en temperatura y del contacto e interacción con fluidos exudados.

AGRADECIMIENTOS.

Los autores agradecen el apoyo financiero otorgado por DGAPA-UNAM para el proyecto clave IN-24506-2.

REFERENCIAS

- Anónimo, 2007. Empaque Performance No. 196. México.
- Aksu, M.I., Kaya, M., Ockerman, H.W. 2005, Effect of modified atmosphere packaging and temperature on the shelf life of sliced pastirma produced from frozen/thawed meat . Journal of Muscle Foods 16 (3): 192-206
- Bing Li, Da-Wen Sun., 2002. Novel methods for rapid freezing and thawing of foods. Journal of food eng. 54:175-182.
- Blixt, Y. y Borch E. 2002. Comparision of shelf life of vacuum-packt pork and beef. Meat Science. 60:371-378.
- Cleland A.C., 1990, Food refrigeration processes, design and simulation, Elsevier Applied Science., USA.
- Forrest J. C., 1979, Fundamentos de ciencia de la carne, Ed. Acribia, España.
- Hardman., 1978, McKay J.E. in Chapter 5 of "Water and Food Quality", Edited by Thelma M., Elsevier Applied Science, London.
- <http://www.quiminet.com>
- Instituto Internacional del Frio, 1990, Alimentos congelados, procesado y distribución, Ed. Acribia, S.A., Zaragoza, España.
- Mallet C. P., Marsden J. L., Henrickson R.L. 1993, in "Frozen Food Technology"; Blakie Academic Professional, 1ª. ED, UK. Lawrie R. A., Developments in Meat science-4/Development series, Elsevier applied science. London.
- Meléndez P. R., 2002, Efecto de la congelación sobre el comportamiento térmico de la carne de cerdo evaluado por MDSC. Maestría en Fisicoquímica (Métodos y Metrología) F. E. S. C. – U. N. A. M..
- Molina-García A., Otero L., Martino N. M., Zaritzky N., Arabas J., Szczepek J., Sanz P. 2004. Ice VI freezing of meta: supercooling and ultrastructural studies. Meat Science 66:709-718.
- Mortensen M., Andersen H. J., Engelsen S.B., Bertram H.C. 2006. "Effects of freezing temperature, thawing and cooking rate on water distribution in two pork qualities. Meat Science 72:34-42
- Price D.M., Reading M., Hammiche A., Pollock H.M., Branco M.G. 1999. Localised thermal analysis of a packaking film. Thermochemica Acta 332, 143-149
- Solarski, S., Ferreira, M., Devaux, E., 2005. Characterization of the thermal properties of PLA fibers by modulated differential scanning calorimetry, Polymer 46 (25):11187-11192
- Urrutia-Beneet et al. 2005. Metastable phases during high-pressure-low temperature processing of potatoes and their impact n quality related parameters. Journal of Food Eng.Elsevier Ltd.

ELABORACIÓN DE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES A BASE A
QUITOSANO Y ESTUDIO DE SU EFECTO ANTIMICROBIANO EN FILETES
DE SALMÓN

Vásconez, María Belén¹; Flores, Silvia^{2,3}; Campos, Carmen^{2,3}, Juan de Dios Alvarado¹ y Gerschenson, Lía^{2,3}.

¹UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
Casilla 18-01-0334. E-mail: fcial@uta.edu.ec

AMBATO – ECUADOR

²UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
Ciudad Universitaria, (1428) Buenos Aires, Argentina.

E-mail: carmen@di.fcen.uba.ar

³CONICET

Palabras clave: Películas biodegradables, quitosano, actividad antimicrobiana, salmón, preservación

RESUMEN

El presente trabajo, tiene por objetivo evaluar la aplicación de recubrimientos comestibles en base a quitosano y a quitosano - almidón de mandioca para extender la vida útil de filetes de salmón. El quitosano empleado fue obtenido por deacetilación de quitina, extraída de caparzones de camarón. Para evaluar la capacidad antimicrobiana de los recubrimientos se evaluó el recuento de aerobios mesófilos y psicrófilos tanto en superficie como en la masa de alimento. Además se determinó la evolución del pH y la pérdida de peso durante el almacenamiento a 2 °C. Los resultados obtenidos demuestran que el uso de una cobertura conteniendo quitosano permite extender la vida útil de trozos de filetes de salmón.

INTRODUCCIÓN

El uso de películas y recubrimientos comestibles para extender la vida útil y mejorar la calidad de alimentos frescos, ha recibido particular interés en los últimos tiempos (Baldwin, 1994). Estas capas protectoras pueden impartir propiedades funcionales específicas como el control de la transferencia de humedad entre el alimento y el medio ambiente, liberación controlada de agentes activos (antioxidantes, antimicrobianos, etc.), reducción de la presión parcial de oxígeno en los tejidos reduciendo la velocidad metabólica, refuerzo de la integridad estructural, retención de grasas y aceites, etc. (Kester y Fennema, 1986). Los materiales con los cuales estas películas pueden ser elaboradas incluyen biopolímeros naturales, como almidones, celulosa, proteínas, gomas, etc., ampliamente disponibles y biodegradables. Un ejemplo de lo anterior es el empleo de quitosano, un derivado N-deacetilado del polisacárido natural quitina (extraído del exoesqueleto de insectos, crustáceos y arácnidos). El quitosano ha mostrado tener buenas propiedades formadoras de películas, biodegradabilidad, actividad antimicrobiana e hidrofobicidad relativamente aumentada (Bangyekan y col., 2006; Shahidi y col., 1999). Por otro lado, el almidón de mandioca ha sido utilizado para elaborar películas comestibles homogéneas y de gran resistencia, ya sea solo o acompañado por otros biopolímeros (Mathew y Abraham, 2007), con el propósito de servir como medio soporte de agentes activos (Flores y col., 2006).

El pescado es más susceptible al deterioro que el pollo o la carne roja ya que contiene una mayor proporción de aminoácidos libres y bases nitrogenadas volátiles. Durante su almacenamiento, la calidad del mismo disminuye rápidamente, siendo las reacciones enzimáticas y químicas usualmente las responsables de la pérdida inicial de frescura, mientras que la actividad microbiana es la responsable del deterioro que determina la finalización de la vida útil del producto (Gram y Hauss, 1996).

Para extender la vida útil del pescado se busca aplicar diferentes estrategias novedosas de preservación, entre ellas, el uso de películas comestibles conteniendo preservadores en combinación con el almacenamiento bajo refrigeración y el uso

de otros factores de estrés microbiano tales como las altas presiones (Gomez –Estaca y col, 2007).

El salmón es un pescado graso de alta calidad desde el punto de vista nutricional que se expende tanto fresco eviscerado como fileteado. Se ha reportado que el uso de películas comestibles en base a quitosano permite extender la vida útil de distintos productos de la pesca (No y col., 2007).

De acuerdo a lo antedicho, el objetivo del presente trabajo fue estudiar la acción antimicrobiana de recubrimientos con base en quitosano, almidón de mandioca y glicerol aplicados a trozos de salmón, a fin de extender su vida útil.

MATERIALES Y METODOS

Preparación de las soluciones de inmersión

Se prepararon dos soluciones de inmersión según:

- **Solución 1:** solución de quitosano 1% (p/p) en ácido acético 1% (p/p). Se adicionó glicerol (0,63% p/p). En este caso, el material insoluble se separó por filtración. El quitosano utilizado en el presente trabajo fue obtenido por deacetilación de quitina como indica el método propuesto por Almeida y Arancibia (2005).
- **Solución 2:** solución de quitosano y almidón de mandioca, preparada por mezcla de: *Solución A*, compuesta por quitosano y ácido acético 1% p/p, y *Solución B*, compuesta por almidón de mandioca, glicerol y agua destilada. La *Solución B* se sometió a tratamiento térmico sobre platina calefactora y agitación a fin de gelatinizar el almidón. Una vez gelatinizado se adicionó la *Solución A* y se homogenizó utilizando un equipo Ultraturax. Se aplicó vacío para eliminar las burbujas de aire. La concentración final (% p/p) de los componentes fue: quitosano 1, almidón de mandioca 2 y glicerol 0,63.

El pH de ambas soluciones fue ajustado a 4,0 con ácido acético 50% p/p.

Inmersión de los trozos de pescado

Se cortaron porciones de filete de salmón (3 por 3 cm aproximadamente) y se sumergieron en las soluciones de inmersión durante 3 minutos. Se retiraron, escurrieron y se secaron bajo flujo laminar a temperatura ambiente (1,5 horas) y posteriormente en cámara refrigerada a 2°C (1,5 horas). Los trozos se colocaron en bandejas de poliestireno expandido (3 trozos por bandeja), se envolvieron en film de PVC y se almacenaron en cámara a 2°C durante 6 días. Como sistema control se utilizaron trozos de salmón sin tratamiento de inmersión.

Análisis de calidad y microbiológico

Durante el almacenamiento (tiempos 0, 3 y 6 días), se evaluaron la pérdida de peso, el pH, y la carga microbiana, tanto en superficie como total, a través del recuento aerobios mesófilos y psicrófilos. Para el recuento de viables en superficie se procedió al hisopado de un área de 3,14 cm², en cuanto que el recuento total se determinó a partir de una alícuota de pescado que se diluyó y homogeneizó con agua peptona en un homogenizador de tejidos. En todos los casos se utilizó el medio de cultivo Plate Count Agar (PCA) y la técnica

de recuento en profundidad. Las diluciones seriadas se efectuaron empleando agua peptona. Las condiciones de incubación fueron: 30°C, 72 horas para los aerobios mesófilos y 2°C, 7 días para los aerobios psicrófilos.

El pH se determinó mediante un pHmetro provisto de electrodo de penetración de 6 mm de diámetro. La lectura del pH se efectuó mediante penetración del electrodo en el músculo. La pérdida de peso se evaluó por gravimetría. Todas las determinaciones fueron realizadas por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las Figuras 1 y 2 se muestran los recuentos superficiales y totales obtenidos para el tejido de pescado.

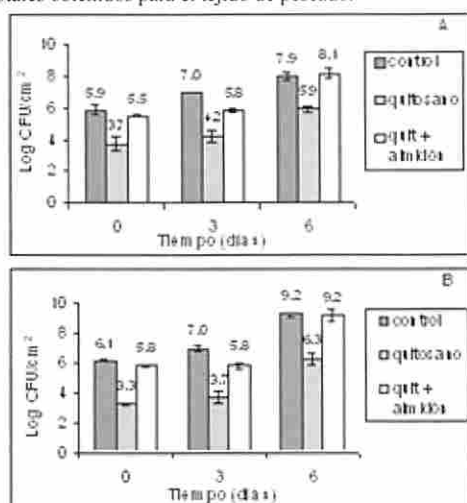


Figura 1: recuento de aerobios mesófilos (panel A) y psicrófilos (panel B) realizado en la superficie de filete de salmón durante el almacenamiento.

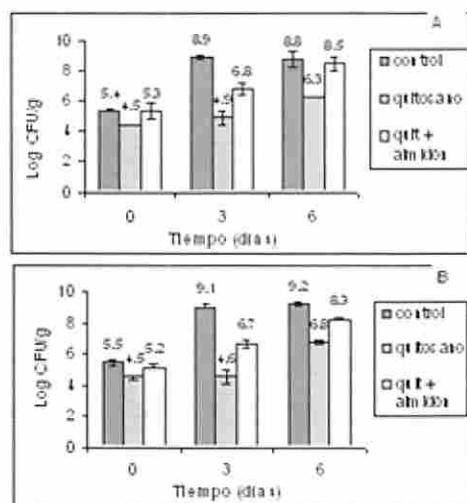


Figura 2: recuento de aerobios mesófilos (panel A) y psicrófilos (panel B) totales de filete de salmón durante el almacenamiento.

Puede apreciarse que el pescado recubierto con las soluciones de quitosano y quitosano más almidón presentó menor desarrollo de la flora, en relación a las muestras controles, durante el almacenamiento.

En todos los casos, el recuento de viables fue más bajo para el caso de la cobertura realizada con quitosano (Solución 1), siendo su actividad antimicrobiana más efectiva que la correspondiente a la Solución 2 de quitosano más almidón de mandioca. Esta tendencia podría explicarse teniendo en cuenta que el quitosano podría interactuar con el almidón y entonces se reduciría la acción antimicrobiana del preservador. Se sabe que algunos preservadores tales como el ácido benzoico, el ácido p-hidroxibenzoico y el ácido sórbico, entre otros pueden interactuar con los almidones

mediante la formación de complejos y en general, se reconoce que la fracción amilósica del almidón es la responsable de las interacciones observadas, ya que la misma tiene la capacidad de formar estructuras helicoidales alrededor de las moléculas y serían estos complejos los que afectarían la actividad de los preservadores (Ofman y col., 2004).

De acuerdo a los resultados, el recuento superficial fue, en general, más bajo que el recuento total tanto para los microorganismos mesófilos como para los psicrófilos. Esto pone en evidencia la mayor disponibilidad del antimicrobiano en la superficie del alimento

Cabe señalar que la efectividad antimicrobiana de las coberturas, fue disminuyendo conforme aumentaba el tiempo de almacenamiento, siendo este efecto más marcado para los tejidos que fueron sumergidos en la solución de quitosano más almidón, para los cuales el recuento luego de seis días se incrementó hasta equiparar a los controles.

La Figura 3 resume los cambios registrados en el pH y en la pérdida de peso de los trozos de salmón. Se observó que el pH aumentaba con el tiempo de almacenamiento. Este incremento sería originado por la acumulación de compuestos de amonio y de otras moléculas alcalinas producto de la mayor actividad enzimática y microbiológica que se registra durante el almacenamiento bajo refrigeración.

Es de destacar que según lo dispuesto por el Código Alimentario Argentino en el Art. 272, solo el pescado recubierto con la solución de quitosano era apto para el consumo al cabo de 6 días de almacenamiento ya que tanto el control como el pescado recubierto con la solución mezcla presentaban valores de pH mayores a 7,5. Como muestra la Figura 3, panel A, este deterioro fue menos importante para el caso del pescado recubierto con solución de quitosano, en concordancia con los menores valores de recuento obtenidos para este sistema.

En cuanto a la pérdida de peso del tejido, se destaca que las coberturas estudiadas disminuyeron la deshidratación del pescado, reduciéndola de 18% a 11,8-12,8% (Figura 3, panel B). Estos resultados muestran que la inmersión en la solución de quitosano en las condiciones de trabajo formó una cobertura que actuó como barrera frente a la pérdida de humedad. Igual tendencia fue reportada por Satchivel (2005) quien verificó que el recubrimiento de filetes de salmón rosado con quitosano permitía reducir en un 50 % la pérdida de humedad durante el almacenamiento al estado congelado.

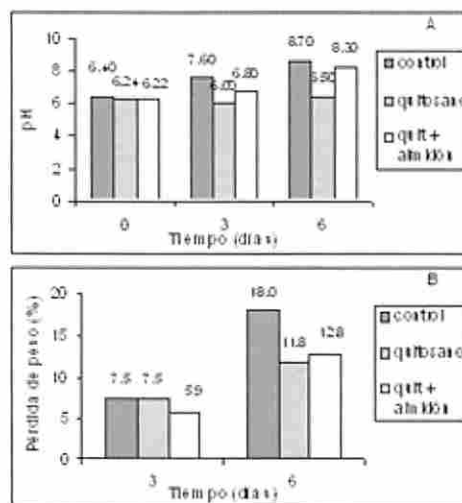


Figura 3: Evolución del pH (panel A) y de la pérdida de peso (panel B) del tejido de salmón durante el almacenamiento.

CONCLUSIONES

La aplicación de coberturas comestibles a base de quitosano mostró ser efectiva para enlentecer el desarrollo de microorganismos en trozos de filete de salmón, ya que el recuento de aerobios mesófilos y psicrófilos se redujo tanto

La cobertura de quitosano permitió obtener recuentos de bacterias aerobias mesófilas y psicrofílicas menores a 10^7 UFC/g y un pH de 6,50 al cabo de 6 días de almacenamiento a 2 °C. En cuanto a la capacidad de actuar como barrera para prevenir la deshidratación, las coberturas con quitosano o con quitosano – almidón fueron igualmente eficientes. Los resultados obtenidos demuestran que el uso de una cobertura conteniendo quitosano permite extender la vida útil de trozos de filetes de salmón.

AGRADECIMIENTO

Al Proyecto CYTED XI.20 por hacer posible y facilitar la realización de la pasantía de M. B. Vásquez en la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad de Buenos Aires, Argentina bajo la tutoría de la Dra. Gerschenson. A la Universidad Técnica de Ambato por el apoyo a través del Proyecto UTA-CENI-FCIAL-BIOFILMS. A ANPCyT, UBA, CONICET (Argentina) por el apoyo financiero.

REFERENCIAS

Almeida, A y Arancibia, M. (2005). Desarrollo de tecnología para la obtención de quitina y quitosano a partir del caparazón del camarón (*Penaeus vannamei*). Tesis de grado para optar por el Título de Ingeniero en Alimentos. Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Ambato - Ecuador.
 Baldwin E. A. (1994). Edible coatings for fresh fruits and vegetables: past, present, and future. En J. M. Krochta, E. A. Baldwin, M. O. Nisperos-Carriedo, *Edible coatings and films to improve food quality* (pp. 89-104). Lancaster, Pennsylvania: Technomic Publishing Co., Inc.
 Bangyekan, C. Aht-Ong, D., Srikulkit, K. (2006) Preparation and properties evaluation of chitosan-coated cassava starch films. *Carbohydrate Polymers* 63, 61-71.

Flores, S., Haedo, A. S., Campos, C., Gerschenson, L. (2006). Antimicrobial performance of sorbates supported in a tapioca starch edible film. *European Food Research and Technology*, 225, (3-4), 375-384.
 Gomez-Estaca, J., Montero, P., Gimenez, B. and Gomez-Guillen, M. C. (2007). Effect of functional edibles films and high pressure processing on microbial and oxidative spoilage in cold-smoked sardine (*Sardine pilchardus*). *Food Chemistry*. 105, 511-520.
 Gram, L and Huss, H. H. (1996). Microbiological spoilage of fish and fish products. *International J of Food Microbiology*. 33, 121-137.
 Kester, J.J. y Fennema O.R. (1986). Edible films and coatings: a review. *Food Technology*, December, 47-59.
 Mathew S., Abraham T.E. (2007) Characterization of ferulic acid incorporated starch–chitosan blend films. *Food Hydrocolloids*. In Press.
 No, H, K, Meyers, S. P., Prinyawiwatui and Xu, Z. (2007). Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: A Review. *J of Food Science*, doi: 10.1111/j.11750-3841.2007.00383.x
 Ofman, M. H., Campos, C. A. and Gerschenson, L. N. (2004). Effect of preservatives on the functional properties of tapioca starch: analysis of interactions. *Lebensmittel Wiss. U Technol.* 37 (3), 355-36
 Shahidi, F., Arachchi, J.K.V., Jeon, Y-J. (1999). Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science & Technology*, 10, 37-51.
 Sathivel, S (2005). Chitosan and protein coatings affect yield, moisture lost and lipid oxidation of pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) fillets during frozen storage. *J Food Science*, 70 (8). E455-459.

DESARROLLO DE UN RECUBRIMIENTO A BASE DE CASEINATO DE SODIO Y ÁCIDO ELÁGICO COMO ANTIMICROBIANO PARA PROLONGAR LA VIDA DE ANAQUEL DEL CHILE FRESCO (*Capsicum annuum*).

Flores Aguilar, J. Miriam; Villaseñor Ortega, Francisco y Pérez Pérez, Ma. Cristina I.
Departamento de Ingeniería Bioquímica, Instituto Tecnológico de Celaya, Av. Tecnológico y García Cubas S/N, C.P. 38010. Celaya, Gto., México. Tel.: (461) 6117575 Ext. 209 y 329.

Palabras clave: Recubrimiento, ácido eláxico, caseinato de sodio, *Capsicum*.

RESUMEN

En el presente trabajo se desarrolló un recubrimiento combinando caseinato de sodio, glicerol, cera de abeja y tween 80 con el ácido eláxico como agente antimicrobiano y antioxidante. El caseinato de sodio y glicerol promovieron reforzamientos estructurales y de barrera, prolongando la vida de anaquel del chile fresco (*Capsicum annuum*). Como modelo de estudio se usó la bacteria *Xanthomonas campestris* pv. vesicatoria. Se utilizaron tres diferentes concentraciones de ácido eláxico en la formulación del recubrimiento, el cual se aplicó a chiles frescos (serranos y jalapeños). Los ensayos se realizaron por triplicado usando controles positivos (recubrimiento más ácido eláxico) y controles negativos (sin recubrimiento, con recubrimiento sin ácido eláxico) a dos temperaturas: 28 y 4 °C.

INTRODUCCIÓN

Gracias a los avances tecnológicos se ha mejorado la calidad de vida de las personas modificando sus hábitos y costumbres, es por ello que los consumidores son cada vez más exigentes en cuanto a la calidad de los productos. La necesidad de los productores en mantenerse en los mercados nacionales e internacionales, impone el reto de elaborar productos con mayor calidad e inocuidad, preservando los recursos naturales y manteniendo un equilibrio ecológico.

La demanda de alimentos de alta calidad y con larga vida de anaquel, en conjunto con el interés ambiental de reducir los desechos sólidos, ha incrementado el desarrollo de recubrimientos biodegradables. Aunque estos recubrimientos no están considerados como reemplazos totales de los empaques sintéticos, tienen potencial para disminuir el uso de éstos. Los empaques biodegradables tienen la ventaja de limitar la migración de humedad, aromas y lípidos entre los componentes de los alimentos, o ser transportadores de agentes antioxidantes y antimicrobianos, donde los empaques tradicionales no pueden funcionar (Krochta y Mulder-Johnston, 1997; Kim y col., 2002).

Uno de nuestros principales cultivos es el chile y uno de los que más problemas en campo y poscosecha presenta. El chile se ubica entre los ocho principales frutos en el mundo con una producción anual de 24 millones de toneladas. México ocupa el segundo lugar de producción con 1'853 610 ton (FAO, 2006). Al menos cinco de sus especies son cultivadas en mayor o menor grado a nivel nacional, en el ámbito mundial, casi la totalidad de la producción de ají y pimiento está dada por una sola especie: *Capsicum annuum* (Conaproch, 2006).

En este trabajo se plantea la elaboración de un recubrimiento biodegradable a base de caseinato y ácido eláxico (agente antimicrobiano) sobre dos tipos específicos de chiles frescos: serrano y jalapeño, a los cuales se les evaluó su vida de anaquel y actividad antimicrobiana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Reactivos

La materia prima empleada para elaborar el recubrimiento biodegradable fue caseinato de sodio (Sigma G8654), glicerol (Sigma G6279) y agua destilada.

Extractos

A la suspensión filmogénica formadora de la película se le agregó el ácido eláxico (Sigma E2250) como agente antimicrobiano y antioxidante.

Microorganismo y medio de cultivo

Xanthomonas campestris pv. vesicatoria (cepa proveniente del Lab. de Biología Molecular del Departamento de Ingeniería Bioquímica del Instituto Tecnológico de Celaya). Medio de cultivo YPG elaborado con glucosa (Sigma), peptona de caseína (BD Bioxon), extracto de levadura (BD BBL) y agar bacteriológico (BD Bioxon).

Métodos

Elaboración del recubrimiento

La mezcla de caseinato de sodio (10 % p/v), glicerol (8 % p/v), cera de abeja (0.7 % p/p), ácido eláxico (100, 200 y 300 ppm) y agua destilada, se agitó a 200 rpm durante 20 minutos con la finalidad de dispersar las proteínas, el agente plastificante (glicerol) y el agente antimicrobiano (ácido eláxico) en el disolvente (agua), obteniendo una suspensión, la que posteriormente se aplicó al chile fresco por inmersión.

Secado

Los chiles frescos recubiertos con la suspensión, se colocaron a una temperatura de 28 °C por 24 horas para que el recubrimiento se secase.

Pruebas de la vida de anaquel del chile fresco con el recubrimiento

El ensayo para evaluar la vida de anaquel del chile fresco recubierto se realizó a dos temperaturas, 28 y 4 °C, utilizando controles negativos (chile fresco sin recubrimiento y con recubrimiento sin ácido).

Determinación de la constante de inhibición de la bacteria *Xanthomonas campestris* pv. vesicatoria utilizando ácido eláxico como inhibidor

Se realizaron cinéticas de la bacteria *Xanthomonas campestris* pv. vesicatoria a diferentes concentraciones de glucosa con y sin ácido eláxico (300 ppm) para determinar la constante de inhibición.

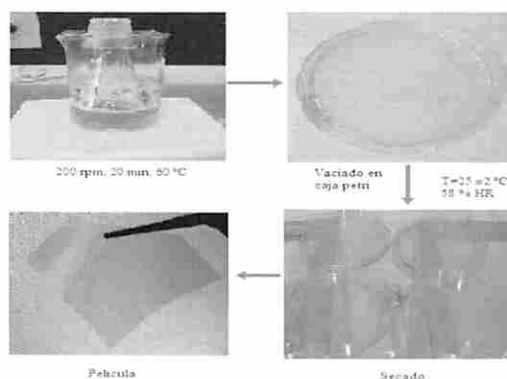


Fig. 1. Elaboración del recubrimiento a base de caseinato de sodio y ácido eláxico.

Evaluación de la actividad antimicrobiana

Técnica de difusión en agar

Esta técnica se adaptó de la norma British Standard BS 4020 1974. El agar YPG (extracto de levadura, glucosa y peptona de caseína) se vertió en cajas petri de 150 mm x 15 mm, se dejó solidificar 1 hora a temperatura de 4 °C, se inoculó con la

Xanthomonas campestris pv. vesicatoria a 1×10^6 UFC/mL, posteriormente se hicieron pozos de 7 mm de diámetro con un horador No. 4 previamente esterilizado y enfriado, se retiró el agar de los pozos y se inoculó con 60 μ L de ácido elágico a diferentes concentraciones y por triplicado. Se incubó a 28 °C por 18 horas mínimo. El porcentaje de inhibición fue calculado haciendo un análisis digital de imágenes, en donde se hizo uso de 3 softwares: *Ulead Photo Express 2.0 SE*, *Corel Photo-Paint 10* y *SigmaScan Pro*.

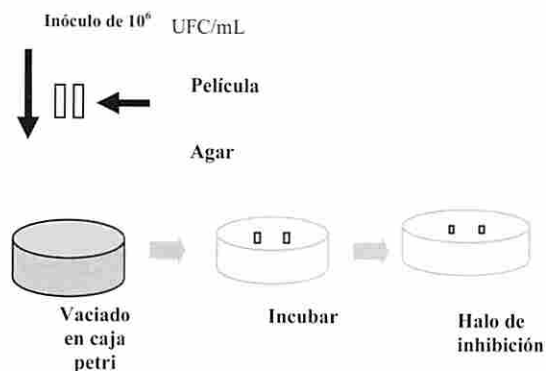


Fig. 2. Técnica para el análisis de actividad antimicrobiana

Análisis digital de imagen

Una vez transcurrido el tiempo de incubación de la bacteria con el recubrimiento mas el ácido elágico y que se observó el halo de inhibición; se usó una cámara fotográfica para capturar las imágenes de interés, se pasaron a la computadora, se hizo un análisis de contraste para que la imagen quede lo mas clara posible, lo cual es importante para los siguientes pasos en el análisis: edición y medición de los objetos.

Edición de imágenes

En la edición de las imágenes, primero se resaltaron los halos de inhibición haciendo uso del software *Ulead Photo Express 2.0 SE* siguiendo una serie de instrucciones y comandos del programa, después a la imagen se le hace una escala de grises siguiendo también una serie de pasos y haciendo uso del software *Corel Photo-Paint 10*.

Medición de objetos

Gracias al software *SigmaScan Pro* primero se hizo un reconocimiento y conteo de objetos, en este caso de los halos de inhibición, posteriormente se mide el área de los objetos que reconoció y midió el programa, después los resultados son arrojados en un formato de Microsoft Office Excel para finalmente calcular el porcentaje de inhibición del antimicrobiano (ácido elágico) con la ecuación 1.

Cálculo del porcentaje del efecto inhibitorio respecto al control positivo:

$$\% \text{ inhibición} = \frac{\bar{x} \text{ dm de inh de pel con ácido elágico}}{\bar{x} \text{ dm de inh de control positivo}} \times 100$$

(Proestos *et al.*, 2005)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se llevó a cabo un barrido de longitud de onda de una suspensión de bacterias a diferentes concentraciones celulares, en un espectrofotómetro *PerkinElmer (UV/VIS Lambda 20)* el cual abarca la región UV/visible del espectro electromagnético, para determinar a que longitud de onda absorben las células.

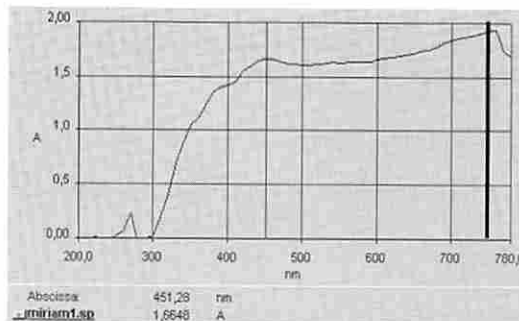


Fig. 3. Barrido de longitud de onda de una suspensión de *Xanthomonas campestris* pv. vesicatoria en la región UV/visible del espectrofotómetro.

Se realizaron dos curvas estándar para cuantificar el número de unidades formadoras de colonias por mililitro de la bacteria *Xanthomonas campestris* pv. vesicatoria en función de la densidad óptica (DO) a las longitudes de onda de 451 y 759 nm que fue donde se observaron las absorbancias máximas.

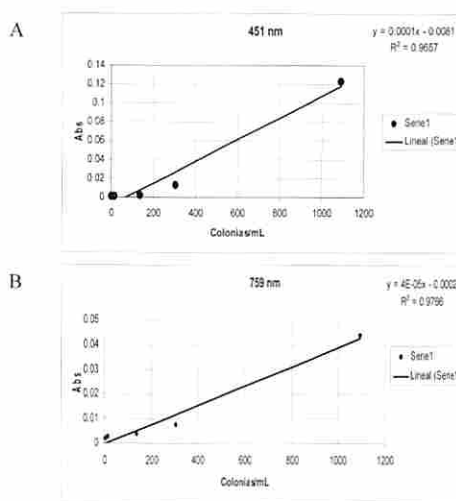


Fig. 4 Curva estándar para determinar el número de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL) de la bacteria *Xanthomonas campestris* pv. vesicatoria en función de la densidad óptica. En A se observa a la longitud de onda de 451 nm y en el B se observa a la longitud de onda de 759 nm.

Se recubrieron chiles frescos serranos y jalapeños con la formulación de caseinato de sodio caracterizada a tres diferentes concentraciones de ácido elágico (0, 100, 200 y 300 ppm). Los ensayos se realizaron por triplicado para observar la vida de anaquel usando controles positivos (recubrimiento mas ácido elágico) y controles negativos (sin recubrimiento y con recubrimiento sin ácido elágico) y a dos temperaturas: 28 y a 4 °C.

Se observó que el recubrimiento que tenía mayor concentración de ácido elágico (300 ppm), preservó al chile fresco por 20 días mas, a diferencia del los recubiertos con película pero sin el ácido elágico, ambos a la temperatura ambiente. Los chiles sin recubrir mostraron un daño superficial muy notorio a los 3 días, deshidratación total, así como cambio de color, de verde a rojo, pérdida de peso y tamaño.

Los chiles se conservaron más tiempo a la temperatura de 4 °C comparado con la temperatura de 28 °C, permaneciendo más frescos los recubiertos con el ácido elágico que los que no lo contenían.

El empleo del análisis digital de imágenes fue una herramienta adecuada para la caracterización cuantitativa del porcentaje de inhibición del agente antimicrobiano usado en el recubrimiento, para evaluar la actividad antimicrobiana.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.

La elaboración de recubrimientos a base de caseinato de sodio y ácido elálgico fue favorable en la conservación de ambos tipos de chile fresco, alargando la vida de anaquel y lo protegió del ataque bacteriano.

La cuantificación del % de inhibición resultó más conveniente al analizarlo mediante análisis digital de imágenes que por la técnica convencional de medición del área.

Perspectivas

Las curvas estándares son útiles para obtener las concentraciones deseadas de la solución stock microbiana necesaria para inocular el chile fresco y de ahí realizar las cinéticas de crecimiento de la bacteria para obtener la concentración mínima inhibitoria (CIM) y los parámetros cinéticos.

En el presente trabajo se empleó como modelo de estudio a la bacteria *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, sin embargo, no es un patógeno que ataca al fruto en estado poscosecha, por lo que se sugiere la posibilidad de emplear otros patógenos como modelos de estudios, principalmente hongos que ataquen al chile poscosecha, entre ellos están: *Rhizopus sp.*, *Fusarium sp.* o *Alternaria sp.*

AGRADECIMIENTOS:

A los investigadores del Lab. de Biología Molecular y de Bioingeniería del Instituto Tecnológico de Celaya por el apoyo brindado.

BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS

- Conaproch, 2006. Situación de los chiles en México. Disponible en: www.conaproch.org/ch_situación_nacional.htm
- FAOSTAT, 2006. Producción de frutas y hortalizas y su proporción en la producción mundial. Disponible en: www.faostat.fao.org/es/ess/yearbook/vol_1_1/pdf/b03.pdf
- Krochta, J. M. and DeMulder-Johnston, C. 1997. Edible and biodegradable polymers films: Challenges and opportunities. *Food Technol.* 51: 61-74.
- Proestos, C; Chorianopoulos, N; Nychas, E; and Komaitis, M. 2005. RP-HPLC Analysis of Phenolic Compounds of Plant Extracts. Investigation of Their Antioxidant Capacity and Antimicrobial Activity. *J. Agric. Food Chem.* Vol (53): 1190-1195.

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILMES DE PROTEÍNAS E PECTINA

FREITAS, Daniela De Grandi Castro²; FAKHOURI, Farayde Matta¹; COLLARES, Fernanda Paula¹

¹Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Rua Monteiro Lobato, 80 Caixa Postal 6121 CEP 13083-862 Campinas-SP Brasil

²Embrapa Agroindústria de Alimentos. E-mail: daniela@ctaa.embrapa.br

Palavras-chave: biofilme, pectina, proteína de soro de leite, isolado protéico de soja

RESUMO

Fritura por imersão ou "deep-fat frying" é um método amplamente usado na preparação de diversos alimentos conferindo a estes sabor e aparência atrativos. No entanto, os alimentos fritos contêm significativos teores de gordura. O desenvolvimento de produtos mais aceitáveis aos consumidores, cada vez mais conscientes e preocupados com a saúde, leva à necessidade da redução da incorporação de óleo durante o processo de fritura. Uma tendência emergente é o uso de coberturas e filmes comestíveis como barreira à incorporação de óleo durante o processo de fritura. Três tipos de hidrocolóides em três diferentes concentrações, aclamados com esta função: pectina, proteína de soro de leite e isolado protéico de soja, foram comparados quanto as suas habilidades de formação de filme e quanto as suas propriedades mecânicas e permeabilidade ao vapor de água. Os filmes apresentaram diferenças em suas características de manuseio e em suas características mecânicas e de barreira. O aumento da espessura em função do aumento da concentração de hidrocolóides na solução filmogênica influenciou diretamente a opacidade nos filmes protéicos e as propriedades de solubilidade e permeabilidade ao vapor de água nos filmes de proteína de soro de leite.

INTRODUÇÃO

A incorporação de óleo durante a fritura por imersão é afetada por diversos fatores, incluindo: (i) a qualidade do óleo, (ii) temperatura e duração da fritura, (iii) pré-tratamentos empregados e (iv) composição e características do alimento. Recentemente, muitas investigações vêm sendo realizadas com o objetivo de reduzir esta incorporação. Elas estão focadas na adição de ingredientes (compostos químicos) que podem diminuir a absorção de óleo, em tecnologias de cozimento (tempo/temperatura) e procedimentos de pré-tratamentos (tratamento osmótico, branqueamento e outros) (RIMAC-BRNEIÉ et al., 2004). Uma tendência emergente é o uso de coberturas e filmes comestíveis como barreira à incorporação de óleo durante o processo de fritura. O mecanismo de ação frequentemente menciona o baixo conteúdo de umidade, baixa permeabilidade ao vapor de água e suas propriedades de termogelificação ou ligação cruzada. Todas estas propriedades estão vinculadas à redução da perda de umidade e/ou a modificações na estrutura da superfície do alimento formada durante a fritura. Os principais materiais de cobertura são formados à base de proteínas, derivados de celulose, alginatos, pectinas, amido e outros polissacarídeos. Há várias opções de coberturas sendo estudadas para redução de incorporação de óleo em frituras, tais com alginato, celulose e derivados, isolado protéico de soja, proteína do soro de leite, albumina, zeína de milho, glúten e pectina (SALVADOR, SANZ e FISZMAN, 2005; MELLEMA, 2003; ALBERT e MITTAL, 2002; KHALIL, 1999; MALLIKARJUNAN et al., 1997). O objetivo do presente trabalho foi estudar a caracterização de filmes comestíveis a partir de três diferentes hidrocolóides em diferentes concentrações, os quais vêm sendo utilizados como coberturas para redução de gordura no processo de fritura.

MATERIAIS E MÉTODOS

Matéria-prima

Os biopolímeros utilizados para a elaboração dos filmes foram: proteína de soro de leite (Simplese Dry 100, CP Kelco, Limeira, Brasil), isolado protéico de soja (Supro 780, Solae do

Brasil Ind. e Com. Alim. Ltda., Esteio, Brasil) e pectina (Slendid type 200, CP Kelco, Limeira, Brasil). Gelatina (bloom=240, Leiner Davis Gelatin, USA) foi utilizada como coadjuvante e glicerol (Synth) como plastificante.

Elaboração dos filmes

Elaboração de filmes de pectina

Os filmes foram obtidos dispersando muito lentamente 4g, 8g e 12g de pectina em 400mL de água destilada em alta velocidade em equipamento tipo mixer (Fisaton). As soluções foram aquecidas acima de 70°C em banho por 10 minutos sob agitação constante. As soluções foram distribuídas em placas *plexiglass* de 118mm de diâmetro em alíquotas de 20, 30, 40, 50, 60, 70 e 80mL. Os filmes secaram à temperatura ambiente (25°C), durante 24 horas.

Elaboração de filmes de proteína de soro de leite

Os filmes foram obtidos dissolvendo-se lentamente 18g, 22g e 26g de proteína de soro de leite e 6g, 6,6g e 7,8g de glicerol (respectivamente) em 140mL de água destilada. As soluções foram aquecidas acima de 80°C em banho por 5 minutos sob lenta agitação. Soluções de gelatina foram preparadas separadamente hidratando-se 6g de gelatina em 60mL de água destilada, seguindo-se de aquecimento em banho a 90°C por 15 minutos. As soluções formadoras de filme foram então misturadas e distribuídas em placas *plexiglass* de 118mm de diâmetro em alíquotas de 15, 20, 25, 30, 40 e 50mL. Os filmes secaram à temperatura ambiente (25°C), durante 24 horas.

Elaboração de filmes de isolado protéico de soja

Os filmes foram obtidos misturando-se 18g, 22g e 26g de isolado protéico de soja e 1,8g, 2,2g e 2,6g de glicerol em 140mL de água destilada usando o mixer (Fisaton) por 20 minutos. O pH das soluções foi ajustado a 7,99 adicionando solução de NaOH 1Molar e então, foram levadas ao banho para aquecimento a 90°C por 20 minutos sob lenta agitação. Soluções de gelatina foram preparadas separadamente hidratando-se 6g de gelatina em 60mL de água destilada seguindo-se de aquecimento em banho a 90°C por 15 minutos. As soluções formadoras de filme foram então misturadas e distribuídas em placas *plexiglass* de 118mm de diâmetro em alíquotas de 15, 20, 25, 30, 40 e 50mL. Os filmes secaram à temperatura ambiente (25°C), durante 24 horas.

Métodos analíticos de caracterização dos filmes

Aspecto visual

Para cada tipo de filme produzido foram realizadas análises visuais e táteis, visando utilizar apenas os filmes que fossem homogêneos (avaliação quanto à presença de partículas insolúveis e coloração uniforme), apresentassem continuidade (sem rupturas ou zonas quebradiças) e possibilitassem c manuseio.

Permeabilidade ao Vapor de Água

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi determinada através do método padrão E-96 modificado da ASTM (ASTM, 1995). O filme foi selado com parafina em células de permeação feitas de alumínio, contendo cloreto de cálcio. As células de permeação foram acondicionadas em dessecadores mantidos a 25°C e 75% de Umidade Relativa (URE). O vapor de água permeado através do filme foi determinado pelo ganho de massa do cloreto de cálcio, medido a cada 24 horas. Os testes foram realizados em triplicata.

Propriedades mecânicas

A resistência à tração e a porcentagem de alongação na ruptura foram determinadas utilizando texturômetro TA-XT2 (Stable Micro Systems, Surrey, UK), com separação inicial das garras e velocidade do *probe* de 50mm e 1mm/s, respectivamente. Os filmes foram recortados em retângulos de 100mm de comprimento e 25mm de largura. Foram determinadas a força máxima e a extensão no ponto de ruptura. A resistência à tração foi calculada dividindo-se a força máxima pela área seccional do filme (largura do filme x espessura). Dividindo-se os valores de extensão pela separação inicial das garras (50mm) e multiplicando-se por 100, foi obtida a porcentagem de alongação na ruptura. As medidas foram realizadas em seis replicatas.

Espessura

A espessura dos filmes foi determinada com o auxílio de um micrômetro digital MDC-25M (Mitutoyo, MFG, Japan), sendo a média aritmética de 10 medidas aleatórias sobre a área do filme.

Solubilidade em água

Foi determinada segundo o método proposto por Gontard et al. (1994). As amostras, em triplicata, foram preparadas recortando-se discos de 2cm de diâmetro. A massa seca inicial das amostras foi obtida após secagem das mesmas por um período de 24 horas à temperatura de 105°C em estufa de circulação e renovação de ar (TECNAL TE 394/2, Piracicaba, Brasil). Após a primeira pesagem, as amostras foram imersas em um recipiente contendo 50mL de água destilada e colocadas sob agitação suave durante 24 horas. Após este período, as amostras solubilizadas foram retiradas e secas à temperatura de 105°C por mais 24 horas, para a obtenção da massa seca final.

Cor e opacidade

A determinação de cor e opacidade dos filmes foi realizada em colorímetro Hunterlab (Colorquest II, Faifax, USA), nas condições descritas: iluminante D65, ângulo 10°, sistema de cor CIELab (parâmetros L*a*b*), calibração transmitância total. As determinações foram realizadas em seis replicatas após a calibração do colorímetro com um fundo padrão branco e um fundo padrão negro. A opacidade foi determinada segundo HUNTERLAB (1997).

Análise estatística dos resultados

Todos os dados foram analisados pelo método de análise de variância (ANOVA) e comparação de médias pelo teste de Tukey, ambos do software estatístico SAS (1993). As diferenças entre as propriedades dos filmes a um nível de 5% ($p \leq 0,05$) foram consideradas significativas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO**Filmes simples de proteínas e pectina**

Os filmes simples de pectina apresentaram-se sem cor, transparentes e brilhantes, com pequenas e grandes bolhas de ar espalhadas por todo o filme. Devido à alta viscosidade, as soluções homogêneas de pectina apresentaram superfície com grumos e dificuldade de espalhabilidade no suporte. Os filmes formados apresentaram-se muito frágeis e quebradiços, de difícil manuseio e desprendimento do suporte.

Os filmes simples de proteína do soro de leite (formulação testada com glicerol como plastificante em 30% do peso da macromolécula principal) apresentaram coloração amarelado-claro, superfície lisa, opaca e com presença de pequenas bolhas de ar. Estes também apresentaram boa espalhabilidade, porém não houve desprendimento do suporte.

Os filmes simples formados de isolado protéico de soja (formulação testada com 0,3% de gelatina em relação ao peso da macromolécula principal) apresentaram-se de cor amarelo-amarronzados, menos opacos, superfície lisa e sem grumos, de fácil espalhabilidade, mas quebradiços e sem flexibilidade, dificultando o manuseio.

Devido à fragilidade durante o desprendimento da placa, não foi possível obter biofilmes simples à base de proteína de soro de leite e proteína de soja que suportassem o manuseio durante a caracterização dos mesmos.

Filmes compostos de proteínas e gelatina

A adição ou o aumento à formulação de uma macromolécula coadiuvante (gelatina) e de glicerol como plastificante proporcionou a proteína de soro de leite e isolado protéico de soja a obtenção de filmes através do melhor desprendimento de suporte e maior resistência ao manuseio. Adotou-se também o uso de spray de silicone para facilitar o desprendimento de suporte (Tabela 1).

Tabela 1. Concentração (g/100mL) dos agentes formadores dos filmes simples de pectina e compostos de proteínas.

Componentes	Macromolécula principal	Gelatina	Glicerol
Pectina	1	-	-
	2	-	-
	3	-	-
Proteína de soro de leite	9	3	3
	11	3	3,3
	13	3	3,9
Isolado protéico soja	9	3	3
	11	3	3,3
	13	3	3,9

Para as análises de caracterização, foram adotadas as alíquotas de 40mL, 20mL e 20mL na elaboração dos filmes de pectina, proteína de soro de leite e isolado protéico de soja, respectivamente. As medidas para a caracterização dos filmes foram realizadas após o acondicionamento dos mesmos em dessecadores, mantidos a 25°C e 50% URE por 48 horas.

Tabela 2. Permeabilidade ao vapor de água e solubilidade dos biofilmes obtidos de proteínas e pectina.

Filmes	PVA* ($\mu\text{m}^2/\text{d.kPa}$)	Solubilidade em água* (%)
PC 1%	1,81 ± 0,37 ^f	100
PC 2%	2,74 ± 0,31 ^f	100
PC 3%	2,81 ± 0,72 ^f	100
PL9%	6,35 ± 0,99 ^g	30,45 ± 0,57 ^g
PL11%	7,41 ± 0,23 ^g	51,85 ± 0,33 ^g
PL13%	15,00 ± 1,44 ^g	33,32 ± 0,21 ^g
PS9%	5,94 ± 0,73 ^g	38,02 ± 0,19 ^g
PS11%	6,31 ± 0,05 ^g	38,09 ± 0,66 ^g
PS13%	9,46 ± 1,92 ^g	38,71 ± 0,91 ^g

Dados representam média de três replicatas ± estimativa do desvio padrão

*^g: Médias com letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, diferem entre si estatisticamente ($p \leq 0,05$).

PC: pectina; PL: proteína do soro de leite; PS: isolado protéico de soja.

Os filmes de pectina foram considerados 100% solúveis em água (Tabela 2), uma vez que, após 24 horas de imersão em água destilada sob agitação, não foi possível a recuperação dos discos de filme, que estavam totalmente solubilizados. A pectina é um polissacarídeo bastante hidrofílico e se desintegra rapidamente em água. Em um estudo realizado por Batista, Tanada-Palmu e Grosso (2005), todos os filmes compostos de pectina e ácidos graxos analisados apresentaram-se 100% solúveis. Os filmes obtidos de pectina apresentaram menor permeabilidade ao vapor de água do que os filmes protéicos que apresentam, em geral, uma pobre barreira ao vapor de água (GENNADIOS et al., 1994). Esta diferença foi estatisticamente significativa e pode estar relacionada com a espessura dos filmes. Segundo Gontard, Guilbert e Cuq (1992), a solubilidade em água influencia diretamente a propriedade de barreira ao vapor de água dos filmes. Para se obter uma baixa permeabilidade ao vapor de água, deve-se utilizar um material insolúvel ou pouco solúvel em água. No entanto, a permeabilidade dos filmes de pectina foi menor, mesmo sendo o filme mais solúvel. Sobral (1999) e Park & Chinnan (1995) verificaram que o aumento da espessura causa aumento linear na permeabilidade ao vapor de água devido às mudanças estruturais causadas pelo inchamento da matriz, que afetam a estrutura dos biofilmes e provocam tensões internas que podem influenciar a permeação. O aumento da PVA em função da espessura também foi observado por Fakhouri, Batista e Grosso (2003) em filmes de gelatina.

Uma vez que o aumento da concentração de proteínas levou à maior espessura dos filmes, notou-se também o aumento da

permeabilidade e solubilidade diretamente proporciona à concentração de hidrocolóides na solução filmogênica, sendo estas não significativas nos filmes de isolado protéico de soja.

Tabela 3. Propriedades mecânicas e espessura dos biofilmes obtidos de proteínas e pectina.

Filmes	Espessura (mm)	Resistência à tração* (MPa)	Elongação* (%)
PC 1%	0,025	6,93±1,83 ^{cb}	3,70±0,87 ^c
PC 2%	0,052	24,54±5,19 ^a	2,89±,66 ^c
PC 3%	0,068	24,20±7,50 ^a	3,04 0,83 ^c
PL9%	0,103	4,07±0,36 ^{cb}	19,89±2,75 ^{ba}
PL11%	0,118	3,98±0,32 ^{cb}	26,93±3,91 ^a
PL13%	0,113	3,34±0,37 ^c	16,91±2,96 ^b
PS9%	0,075	7,52±0,38 ^{cb}	16,40±2,00 ^b
PS11%	0,076	9,46±0,72 ^b	11,63±2,53 ^{bc}
PS13%	0,085	9,15±0,78 ^{cb}	11,14±2,67 ^{bc}

* Dados representam média de seis replicatas ± estimativa do desvio padrão
 **; Médias com letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, diferem entre si estatisticamente (p≤0,05).
 PC: pectina; PL: proteína do soro de leite; PS: isolado protéico de soja.

Os filmes de pectina a 2% e 3% apresentaram maior resistência à tração e os menores valores de elongação, com diferença significativa dos filmes protéicos (Tabela 3). A adição de gelatina e glicerol nas formulações dos filmes protéicos pode ter influenciado também na diminuição da resistência a tração destes filmes, aumentando significativamente a propriedade de elongação.

Quanto aos parâmetros de cor (Tabela 4), os filmes apresentaram diferença significativa entre si, sendo os filmes de proteína de soro de leite (PL) os de maior coloração vermelha, e o filme de isolado protéico de soja (PS), maior tonalidade amarela e opacidade. Não houve influência significativa da variação de concentração das soluções filmogênicas na cor e opacidade dos filmes de pectina. Porém, observou-se o aumento da opacidade em função do aumento da concentração filmogênica para os filmes protéicos.

Tabela 4. Parâmetros de cor (L*, a*,b*) e opacidade dos biofilmes obtidos de proteínas e pectina.

Filmes	L*	a*	b*	Opacidade*
PC 1%	94,96 ^c	0,12 ^b	1,84 ^c	16,45 ^f
PC 2%	95,05 ^c	0,15 ^b	2,27 ^c	21,17 ^e
PC 3%	95,97 ^c	0,20 ^b	2,22 ^c	21,16 ^e
PL9%	98,50 ^a	0,42 ^a	6,98 ^d	85,53 ^b
PL11%	98,46 ^a	0,48 ^a	6,70 ^d	86,71 ^{ba}
PL13%	96,75 ^b	0,38 ^a	8,52 ^c	89,88 ^a
PS9%	94,68 ^{cd}	-0,11 ^{cd}	9,89 ^{cb}	59,24 ^d
PS11%	94,40 ^d	-0,17 ^d	11,84 ^a	61,11 ^d
PS13%	95,16 ^c	-0,04 ^c	10,63 ^{ab}	65,46 ^c

* Dados representam média de seis replicatas
 **; Médias com letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, diferem entre si estatisticamente (p≤0,05) nos tratamentos
 PC: pectina; PL: proteína do soro de leite; PS: isolado protéico de soja.

CONCLUSÃO

Verificaram-se diferenças nas características de formação de filme, aspectos visuais e nas propriedades mecânicas e de barreira de vapor de água para os diferentes hidrocolóides estudados. Os filmes protéicos não se apresentaram viáveis para formação de filme sem a adição de gelatina e/ou aumento da concentração do plastificante nas formulações. As propriedades de solubilidade e de permeabilidade ao vapor de água nos filmes de proteína do soro de leite foram influenciadas (p≤0,05) pelo aumento da concentração filmogênica e conseqüente aumento da espessura. Os filmes de pectina a 2% e 3% apresentaram maior resistência à tração e os menores valores de elongação (p≤0,05) que os filmes protéicos. A adição de gelatina e glicerol nas formulações dos filmes protéicos diminuiu a resistência à tração destes filmes, aumentando a propriedade de elongação. Os filmes de proteína de soro de leite apresentaram maior coloração vermelha, enquanto os de isolado protéico de soja, maior tonalidade amarela e opacidade. Não houve influência significativa do aumento de concentração das soluções filmogênicas na cor e opacidade dos filmes de pectina

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) por financiar o projeto através dos programas de auxílio à pesquisa e bolsa.

REFERÊNCIAS

Albert, S.; Mittal, G. S. Comparative evaluation of edible coatings to reduce fat uptake in a deep-fat fried cereal product. *Food Research Int.*, n.35, p. 445-458, 2002.
 ASTM. American Society for Testing and Material. **Standard test methods for water vapor transmission of materials.** West Conshohocken, 1995. (ASTM E 96).
 Batista, J. A.; Tanada-Palmu, P. S.; Grosso, C. R. F. Efeito da adição de ácidos graxos em filmes à base de pectina. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 25, n. 4, out.-dez., p.781-788, 2005.
 Fakhouri F. M.; Batista J. A.; Grosso C.R.F. Desenvolvimento e Caracterização de Filmes Comestíveis de Gelatina, Triacetina e Ácidos Graxos. *Brazilian Journal of Food Technology*, vol6, n2. 301-308, jul/dez 2003.
 Gennadios A., Mchugh T. H., Weller, C. L., Krochta, J. M. Edible coatings and films based on proteins. In: Krochta, J. M., Baldwin, E. A., Nisperos-Carriedo, M. (eds). **Edible coatings and films to improve food quality.** Technomic Publishing Co, Inc. Lancaster USA, 1994.
 Gontard, N., Guilbert, S., Cuq, J. L. Edible wheat gluten films: influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. *Journal of Food Science*, 57: 190-199, 1992.
 Gontard, N., Duchez, C., Cuq, J. L., Guilbert, S. Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapor permeability and other physical properties. *International Journal of Food Science and Technology*, 29: 39-50, 1994.
 Hunterlab. The color management company. Universal software, version 3.2. Reston, 1997.
 Khalil, A.H. Quality of french fried potatoes as influenced by coating with hydrocolloids. *Food Chemistry*, n. 66, p. 201-208, 1999.
 Mallikarjunan, P.; Chinnan, M. S.; Balasubramaniam, V. M.; Phillips, R. D. Edible coatings for deep-fat frying of starchy products. *Lebensm.-Wiss. u.-Technology*, n.30, p. 709-714, 1997.
 Mellema, M. Mechanism and reduction of fat uptake in deep-fat fried foods. *Trends in Food Science & Technology*, n. 14, p. 364-373, 2003.
 Park, H. J., Chinnan, M. S. Gas and water vapor barrier properties of edible films from protein and cellulosic materials. *Journal of Food Engineering*, 25, 497-507, 1995.
 Rimac-Brmeić, S.; Lelas, V.; Rade, D.; Simundić, B. Decreasing of oil absorption in potato strips during deep fat frying. *Journal of Food Engineering*, n.64, p.237-241, 2004.
 Salvador, A.; Sanz, T.; Fiszman, S. M. Effect of the addition of different ingredients on the characteristics of a batter coating for fried seafood prepared without a pre-frying step. *Food Hydrocolloids*, n. 19, p. 703-708, 2005.
 SAS Institute. **SAS User's Guide: statistics.** Cary, USA: SAS Inst., 1993.
 Sobral, P. L. J. Propriedades funcionais de gelatina em função da espessura. *Ciência e Engenharia (Science and Engineering Journal)*, 8: 60-67, 1999.

PROPIEDADES VISCO-ELÁSTICAS DE FILMES BIODEGRADÁVEIS A BASE DE BLENDA DE GELATINA E PVA

Mendieta-Taboada, Oscar¹; Sobral, Paulo José do A.²; Carvalho, Rosemary A.²; Habitante, Ana Mônica Q.B.²

¹UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN, FACULTAD DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL, TARAPOTO-PERÚ

²UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS, PIRASSUNUNGA (SP), BRASIL

Palavras chave: proteína, análise dinâmico-mecânica, transição vítrea, propriedades visco-elásticas.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi estudar as propriedades térmicas e visco-elásticas de filmes a base de misturas de gelatina e PVA, utilizando-se a análise dinâmico-mecânica. Os resultados do DMA mostraram que os filmes com 10% de PVA apresentavam apenas um pico no espectro de $\tan\delta$. Com o aumento da concentração de PVA, entretanto, os espectros dinâmicos mecânicos mostraram duas relaxações na curva de $\tan\delta$, isto é, duas Tg. Por outro lado, nos testes de variação da frequência em DMA, os valores do módulo de armazenamento diminuíram com o incremento da temperatura nos espectros obtidos. O modelo de WLF foi aplicado, determinando-se os valores das suas constantes, que aumentaram com o aumento da concentração de PVA na blenda: $C_1=49-66$ e $C_2=463-480K$. Partindo-se desses valores, foram calculados o volume livre fracionário do sistema na Tg e o coeficiente de expansão térmica acima da Tg.

INTRODUÇÃO

Devido aos problemas de poluição gerados pelo uso intensivo de materiais sintéticos na fabricação de embalagens para diversas indústrias, durante a última década tem se incrementado grandemente o interesse no desenvolvimento de embalagens com base em biopolímeros, como proteínas (Torres, 1994; Gennadios et al., 1994) e polissacarídeos (Nisperos-Carriedo, 1994). Além de serem produzidos com matérias primas oriundas de recursos renováveis, esses biomateriais são biodegradáveis (Tharanathan, 2003). De maneira geral, os filmes a base de biopolímeros apresentam sensibilidade às condições ambientais, notadamente à umidade relativa, e baixa resistência mecânica embora os filmes de proteínas tenham alta elasticidade (Torres, 1994; Gennadios et al., 1994).

Uma possível alternativa para melhorar as características mecânicas de filmes a base de proteínas pode ser a mistura desses biopolímeros com polímeros sintéticos (Tharanathan, 2003), como o poli(vinil álcool) (PVA), que é hidrofílico e biodegradável (Matsumura et al., 1999). Alguns trabalhos sobre desenvolvimento e caracterização de filmes a base de blends de PVA e proteínas, como PVA/Glúten de trigo (Dicharry et al., 2006), PVA/colágeno hidrolisado (Sarti e Scandola, 1995, Alexy et al., 2003), e PVA/gelatina (Chiellini et al., 2001a,b, Bergamo et al., 2006), têm sido realizados.

A análise dinâmico-mecânica (DMA) tem sido amplamente utilizada como uma técnica de caracterização de polímeros através da detecção dos processos de relaxação, tanto macroscópico quanto molecular (Kalichevsky et al., 1993). Assim, o objetivo deste trabalho foi estudar as propriedades visco-elásticas dinâmicas de filmes produzidos com misturas de gelatina e PVA, utilizando-se a análise dinâmico-mecânica.

MATERIAL E MÉTODOS

Os filmes utilizados neste trabalho foram produzidos com misturas de gelatina de pele suína tipo A, fornecida pela

indústria Gelita do Brasil Ltda (São Paulo, Brasil), e um tipo de poli(vinil álcool) (PVA®418 da Celanese Ltd USA), com grau de hidrólise de 91,8%, viscosidade de 17,6 cP e peso molecular compreendido entre 31 e 50 kDa (Celanese, 2005), escolhido em estudos prévios.

Os filmes foram produzidos com a técnica "casting" (Sobral et al., 2001), a partir da mistura de soluções de gelatina (solução A) e PVA (solução B). Para a obtenção das formulações do estudo, as soluções A e B foram misturadas e homogeneizadas convenientemente, sob agitação magnética por 15 minutos à temperatura ambiente, obtendo-se concentrações de 10/90% e 30/70%, PVA/gelatina. As soluções filmogênicas, obtidas pelas misturas das soluções A e B, continham sempre uma concentração de macromoléculas (gelatina + PVA) de 2 g de macromoléculas/100 g de solução filmogênica. A solução filmogênica resultante foi dispersa em placas de acrílico (12 x 12 cm) e submetida à secagem em estufa com circulação e renovação de ar (Marconi, MA037), com controle PID ($\pm 0,5^\circ C$) de temperatura a $30^\circ C$ por 24 – 28 horas. As espessuras dos filmes foram mantidas constantes controlando-se a relação massa seca/área do suporte. Após a secagem, os filmes foram condicionados em dessecadores contendo sílica gel, para a eliminação da umidade residual.

O estudo das propriedades visco-elásticas dos filmes foi feito utilizando-se um analisador dinâmico-mecânico (DMA TA2980, TA Instruments), com dois tipos de testes, trabalhando-se sempre no modo de tensão uniaxial: varredura de frequência e varredura de temperatura. Para esses testes foram utilizadas amostras na forma de retângulo com dimensões aproximadas de 19mm x 5mm, fixadas em suporte apropriado.

Nos testes de varredura de temperatura, a amostra era aquecida a $3^\circ C/min$, entre -100 e $150^\circ C$, e submetida à tração oscilatória, mantendo-se a frequência constante em 1Hz, e a amplitude de deformação em 0,2%. Nos testes de varredura de frequência, foram determinadas isotermas na faixa de temperatura de -50 a $150^\circ C$, variando-se a frequência entre 0,01 e 200 Hz, obtendo-se espectros para módulo de armazenagem (E'), módulo de perda (E'') e $\tan\delta$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os filmes produzidos neste trabalho apresentaram espessura em torno de 0,080 mm, e foram transparentes e de fácil manejo.

Varredura de temperatura

Geralmente, em estudos com DMA, a temperatura de transição vítrea (Tg) é associada com a posição do pico de $\tan\delta$ ou do onset da queda do módulo de armazenamento (E') observados nos respectivos espectros de DMA (Cuq et al., 1997). No caso dos filmes com 10% de PVA, observou-se (Figura 1) apenas um pico no espectro de $\tan\delta$, próximo de $38^\circ C$, correspondendo à transição vítrea (Tg) do filme. Esse resultado permite sugerir que a blenda de 10% PVA e 90% gelatina constituiu um sistema homogêneo, isto é, que não houve separação de fases (Kristo e Biliaderis, 2006).

Com o aumento da concentração de PVA para 30%, entretanto, os espectros dinâmicos mecânicos mostraram duas relaxações na curva de $\tan\delta$ (Figura 1). Este comportamento, típico de sistemas binários imiscíveis, reflete a contribuição de cada componente individual da blenda nos fenômenos de relaxação. Esses comportamentos são similares aos reportados por Sarti e Scandola (1995) e Chiellini et al. (2001b), embora esses últimos autores tenham trabalhado com maior proporção de PVA em relação à gelatina, diferentemente deste trabalho. O primeiro pico em $\tan\delta$ ocorreu em temperatura similar a dos filmes com 10% de PVA ($\sim 38^\circ C$), sendo que o segundo pico ocorreu em torno de $62^\circ C$, portanto, em temperatura muito superior

ao primeiro pico, o que permitiria sugerir que a T_g menor corresponderia à fração rica em gelatina, visto que esse mesmo pico foi observado em tanõ dos filmes com menor concentração de PVA, e que a T_g de maior valor seria aquela da fração rica em PVA.

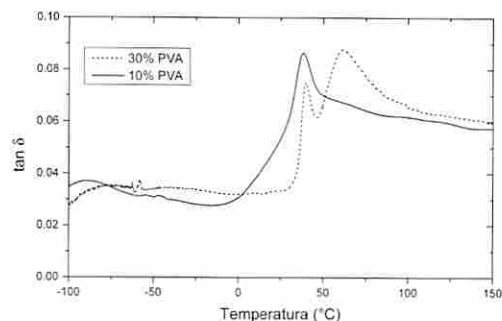


Figura 1. Curvas de DMA de filmes de PVA e gelatina: concentrações de PVA indicadas no gráfico

Varredura de frequência

Exemplos de espectros obtidos nos testes de varreduras de frequência na faixa de 0,01 Hz a 200 Hz e em temperaturas compreendidas entre -50°C e 150°C, com filmes de PVA e gelatina, com concentrações de 10 e 30% de PVA na blenda, estão apresentados nas Figuras 2 e 3. Pode-se observar, em todos os casos, que os valores do módulo de armazenamento diminuíram com o incremento da temperatura, uma vez que a temperatura aumentou a mobilidade das cadeias do polímero, promovendo, portanto, menor resistência aos rearranjos moleculares. Comportamentos similares têm sido observados em filmes de pululano (Kristo e Biliaderis, 2006; Lazaridou et al., 2003), quitosano, quitosano com amido e quitosano com pululano (Lazaridou e Biliaderis, 2002), e pululano com amido de milho (Biliaderis et al., 1999).

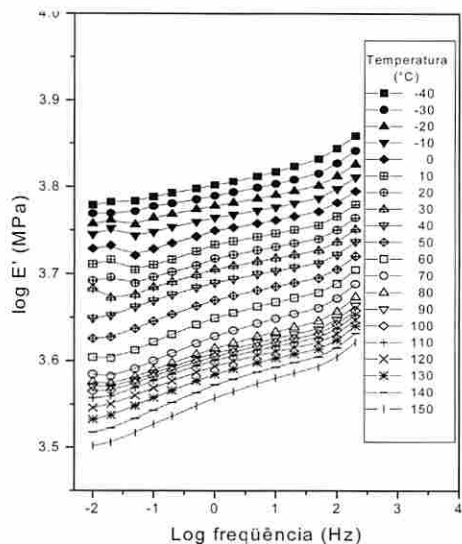


Figura 2. Espectros do módulo de armazenamento para filmes biodegradáveis de PVA e gelatina: 10% de PVA.

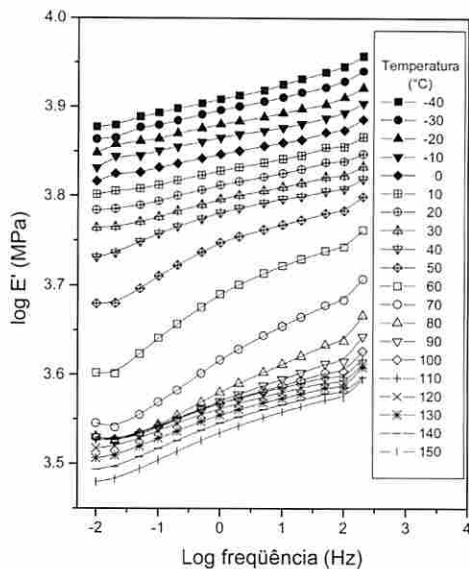


Figura 3. Espectros do módulo de armazenamento para filmes biodegradáveis de PVA e gelatina: 30% de PVA.

A modelagem do comportamento das propriedades visco-elásticas dos filmes em função do tempo (ou frequência), e temperatura, foi feito utilizando-se a equação de Williams-Landel-Ferry (WLF), que permite a geração de uma curva mestra ("master curve") (Lazaridou e Biliaderis, 2002; Kristo e Biliaderis, 2006):

$$\log a_T = \frac{-C_1(T - T_r)}{C_2 + (T - T_r)} \quad (1)$$

onde a_T é o fator de correção ("shift factor"), C₁ e C₂ são as constantes do modelo e T_r é a temperatura de referência, convenientemente escolhida. Conhecendo-se as constantes C₁ e C₂, pôde-se tentar explicar o efeito do PVA sobre as propriedades termomecânicas dos filmes com o emprego da teoria do volume livre dos sistemas. Para isso, as Equações 2 e 3 foram utilizadas (Kasapis e Sablani, 2005; Kristo e Biliaderis, 2006):

$$\frac{1}{C_1} = \frac{2,3 f_g}{B} \quad (2)$$

$$\frac{1}{C_1 C_2} = \frac{2,3 \alpha_f}{B} \quad (3)$$

onde f_g é o volume livre fracionário (relação entre o volume livre e o volume total das moléculas) em T_g, α_f é o coeficiente de expansão de volume livre acima de T_g e B é uma constante empírica.

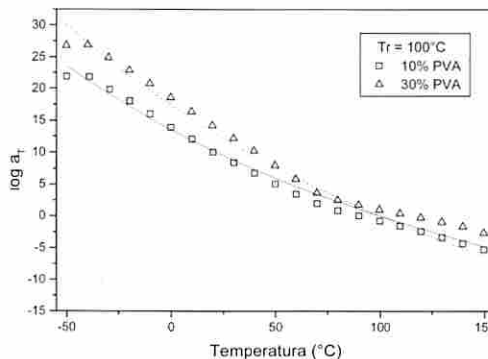


Figura 4. Valores a_T obtidos para filmes biodegradáveis de PVA e gelatina (T_r = 100°C) em função da temperatura.

Na Figura 4 são apresentados os valores de a_T em função da temperatura, utilizados para determinar as constantes C_1 e C_2 da equação de Williams-Landel-Ferry (WLF). Os a_T refletem a dependência do coeficiente de fricção ou mobilidade, do qual dependem as taxas dos rearranjos moleculares, da temperatura. Na Tabela 1 encontram-se os valores das constantes da equação WLF junto com os valores dos parâmetros de volume livre f_g e α_f .

Tabela 1. Valores de C_1 , C_2 , f_g/B , e α_f/B para filmes biodegradáveis de PVA e gelatina.

PVA (%)	Gelatina (%)	C_1	C_2 (K)	$f_g/B \cdot 10^3$	$\alpha_f/B \cdot 10^5$ (K ⁻¹)	R^2
10	90	49,16	463,05	8,84	1,91	0,991
30	70	60,81	455,81	7,15	1,57	0,972

Pode-se notar na Tabela 1 que os valores das constantes C_1 e C_2 das amostras em estudo, estimados do ajuste dos valores a_T à equação WLF ($R^2 > 0,97$), foram muito diferentes dos valores universais de 17,4 e 51,6, respectivamente (Ferry, 1980), e que o valor da constante C_1 aumentou com o aumento da concentração de PVA nas blendas de PVA-gelatina. Os valores das constantes da equação WLF obtidos no presente trabalho são comparáveis com os determinados por Lazaridou e Biliaderis (2002) em quitosano ($C_1=143,57$, $C_2=359,42$ K), e Kristo e Biliaderis (2006) em blendas de pululano e caseinato de sódio ($C_1=87,2$, $C_2=626,1$ K).

Os valores obtidos para o volume livre fracionário (f_g/B) e o coeficiente de expansão do volume livre (α_f/B) são menores que os determinados por Kristo e Biliaderis (2006) em pululano ($f_g/B=4,58 \times 10^{-2}$, $\alpha_f/B=3,73 \times 10^{-3}$ K⁻¹), e em blendas de pululano e caseinato de sódio plastificadas com sorbitol ($f_g/B=1,59 \times 10^{-2}$, $\alpha_f/B=1,1 \times 10^{-4}$ K⁻¹), e são comparáveis com os obtidos para blendas de pululano e caseinato de sódio, sem plastificante, que foram de 5×10^{-3} e 1×10^{-3} K⁻¹, respectivamente (Kristo e Biliaderis, 2006). Os baixos valores obtidos para o volume livre fracionário são um indicativo de que entre as cadeias poliméricas das blendas de PVA e gelatina, sem plastificante, existem poucos espaços livres, como se pode deduzir dos resultados de Kristo e Biliaderis (2006) para as blendas de pululano e caseinato de sódio com e sem plastificante.

CONCLUSÕES

As varreduras de temperatura nas análises de DMA permitiram determinar que, com concentração de 30% de PVA, pode haver separação de fases nos filmes elaborados a partir de blendas de gelatina e PVA.

As análises dos filmes por DMA permitiram a determinação dos espectros do módulo de armazenamento, cujos valores aumentaram com a redução da temperatura de análise. A aplicação do modelo de WLF permitiu determinar as constantes C_1 e C_2 . Conhecido os valores dessas constantes, o volume livre fracionário do sistema a T_g e o coeficiente de expansão térmica acima da T_g foram estimados.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo auxílio e bolsa de OMT (PDJ) e de PJA5 (PQI), e à FAPESP, pelos auxílios (04/08771-7, 05/57781-8).

REFERÊNCIAS

-Alexy, P., Bakos, D., Hanzelova, S., Kukulikova, L., Kupec, J., Charvatova, K., Chiellini, E., and Cinelli, P. 2003. Poly(vinyl alcohol)-collagen hydrolysate thermoplastic blends: I. Experimental design optimisation and biodegradation behaviour. *Polym. Test.*, 22: 801-809

-Bergo, P.V., Carvalho, R.A., Sobral, P.J.A., Bevilacqua, F.R.S., Pinto, J. K.C., and Souza, J.P. 2006. Microwave Insertion Loss Measurements in Gelatin-Based Films. *Meas. Sci. Technol.*, 17: 3261-3264.

-Biliaderis, C.G., Lazaridou, A., and Arvanitoyannis, I. 1999. Glass transition and physical properties of polyol plasticized pullulan-starch blends at low temperature. *Carbohydr. Polym.*, 40: 29-47.

-Celanese. 2005. Celvol® polyvinyl alcohol characteristics. Disponível em: http://www.celanese.com/index/productsmarkets_index/

-Chiellini, E., Cinelli, P., Fernández, E.G., Kenawy, E.S.; and Lazzeri, A. 2001a. Gelatin-based blends and composites. Morphological and thermal mechanical characterization. *Biomacromolecules*, 2: 806-811.

-Chiellini, E., Cinelli, P., Corti, A., and Kenawy, E.R. 2001b. Composite films based on waste gelatin: thermal-mechanical properties and biodegradation testing. *Polym. Degrad. Stabil.*, 73: 549-555.

-Cuq, B., Gontard, N., and Guilbert, S. 1997. Thermal properties of fish myofibrillar protein-based films as affected by moisture content. *Polymer*, 38: 2399-2405.

-Dicharry, R.N., Ye, P., Saha, G., Waxman, E., Asandei, A.D., and Parnas, R.S. 2006. Wheat Gluten-Thiolated Poly(vinyl alcohol) Blends with Improved Mechanical Properties. *Biomacromolecules*, 7: 2837-2844.

-Ferry, J.D., 1980. *Viscoelastic properties of polymers*. New York: John Wiley & Sons.

-Gennadios, A., Mchugh, T.H., Weller, C.L., and Krochta, J.M. 1994. Edible coatings and films based on proteins. In: Krochta, J.M., Baldwin, E.A., Nisperos-Carriedo, M. (Ed.). *Edible coatings and films to improve food quality*. Lancaster: Technomic, p.210-278.

-Kalichevsky, M.T., Blanshard, J.M.V., and Marsh, R.D.L. 1993. Applications of mechanical spectroscopy to the study of glassy biopolymers and related systems. In: Blanshard, J.M.V., Lillford P.J. *The glassy state in foods*, Loughborough, Nottingham University Press, p. 133-156.

-Kasapis, S., and Sablani, S.S. 2005. A fundamental approach for the estimation of the mechanical glass transition temperature in gelatin. *Int. J. Biol. Macromol.*, 36: 71-78.

-Kristo, E., and Biliaderis, C.G. 2006. Water sorption and thermo-mechanical properties of water/sorbitol-plasticized composite biopolymer films: Caseinate-pullulan bilayers and blends. *Food Hydrocolloids*, 20: 1057-1071.

-Lazaridou, A., and Biliaderis, C.G. 2002. Thermophysical properties of chitosan, chitosan-starch and chitosan-pullulan films near the glass transition. *Carbohydr. Polym.*, 48: 179-90.

-Lazaridou, A., Biliaderis, C.G., and Kontogiorgos, V. 2003. Molecular weight effects on solution rheology of pullulan and mechanical properties of its films. *Carbohydr. Polym.*, 52: 151-166.

-Matsumura, S., Tomizawa, N., Toki, A., Nishikawa, K., and Toshima, K. 1999. Novel poly(vinyl alcohol)-degrading enzyme and the degradation mechanism. *Macromolecules*, 32: 7753-7761.

-Nisperos-Carriedo, M.O. 1994. Edible coatings and films based on polysaccharides. In: Krochta, J.M., Baldwin, E.A., Nisperos-Carriedo, M. (Ed.). *Edible coatings and films to improve food quality*. Lancaster: Technomic, p.305-336.

-Sarti, B., and Scandola, M. 1995. Viscoelastic and thermal properties of collagen/poly(vinyl alcohol) blends. *Biomaterials*, 16: 785-792.

-Sobral, P.J.A., Menegalli, F.C., Hubinger, M.D., and Roques, M.A. 2001. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. *Food Hydrocolloids*, 15: 423-432.

-Tharanathan, R.N. 2003. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends Food Sci. Technol.*, 14: 71-78.

-Torres, J.A. 1994. Edible films and coatings from proteins. In: Hettiarachy, N.S., Ziegler, G.R. (Ed.). *Protein functionality in food systems*. New York: M. Dekker, p.467-507.

EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE UN RECUBRIMIENTO COMESTIBLE A BASE DE AISLADO DE PROTEÍNA DE SUERO DE LECHE (WPI) SOBRE QUESO TIPO CHEDDAR

Pérez-Medrano, J.A., Correa-Betanzo, J., Pérez-Pérez, C.,
Departamento de Ingeniería Bioquímica, Instituto Tecnológico de Celaya, Av. Tecnológico y García
Cubas s/n, Celaya, Gto., México, C. P. 38010

Palabras clave: WPI, análisis sensorial, TPA

RESUMEN

La finalidad de este trabajo fue elaborar y caracterizar un recubrimiento comestible a base de aislado de proteína de suero de leche (WPI), así como evaluar el efecto del recubrimiento aplicado sobre queso tipo cheddar sobre las propiedades sensoriales y el análisis del perfil de textura. Se realizaron pruebas fisicoquímicas y mecánicas a las películas elaboradas con diferentes concentraciones de glicerol (30, 40 y 50 % p/p proteína) como material plastificante, cera de abeja (0, 0.5 y 1 % p/p proteína) como material hidrófobo y Tween 80 como agente tensoactivo. El resultado de estas pruebas permitió seleccionar la formulación adecuada para mejorar las propiedades fisicoquímicas y mecánicas para ser aplicada sobre queso tipo cheddar. Las pruebas de análisis sensorial efectuadas por 15 jueces no entrenados en muestras de queso tipo cheddar recubiertas con 2 recubrimientos: WPI y grenetina, así como una muestra control, fueron sometidas a temperatura de refrigeración y temperatura ambiente durante 3 semanas. Se muestra claramente que el recubrimiento a base de WPI mejoró significativamente el olor, el color, el sabor, la textura, el resabio y la aceptación general del producto. El Análisis de Perfil de Textura (TPA) realizado con un texturómetro TA-XT2i acoplado al software Texture Expert Versión 2.1 con un plato de compresión (P/75) demostró que las diferencias significativas ($p < 0.05$) en la dureza, cohesividad, gomosidad, elasticidad, resiliencia y masticabilidad de las muestras recubiertas con WPI fueron aceptadas por el consumidor en mayor medida con respecto al control y las recubiertas con grenetina.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas ha habido un gran interés en el desarrollo de películas comestibles para alimentos, en particular para prolongar la vida de anaquel, contribuyendo a retener su frescura, sabor y apariencia (Regalado González *et al.*, 2006, McHugh y Krochta, 1994). El empleo de películas comestibles puede mejorar las propiedades mecánicas del sistema del alimento y controlar la pérdida de sabores y aromas volátiles, actuando como barrera a la humedad, al oxígeno y al dióxido de carbono, de igual manera, pueden realzar el valor nutritivo del alimento debido a su naturaleza biológica, la cual le confiere biodegradabilidad y compatibilidad ambiental. Los materiales plásticos no biodegradables se utilizan ampliamente en la industria de los alimentos debido a su versatilidad; cada año su producción se ha incrementado ocasionando un grave problema en el medio ambiente. Por ello se requiere desarrollar materiales biodegradables, los cuales deben ser competitivos y lograr la misma función de los polímeros sintéticos. Los materiales alternativos pueden ser compuestos de origen biológico o la combinación de biopolímeros con materiales plásticos. Algunos constituyentes de ellos son: poliésteres, polisacáridos, lípidos y proteínas. La creciente demanda por parte de los consumidores de alimentos más sanos y ecológicos ha llevado a los investigadores a desarrollar nuevos sistemas de envasado que prolonguen la vida útil de los productos y que, al mismo tiempo, sean reciclables. Una de las alternativas que más fuerza está cobrando en los últimos años es el recubrimiento comestible. Se trata de una película transparente que envuelve al alimento y que actúa de barrera frente a la humedad y al oxígeno. Además, estos recubrimientos pueden ser utilizados como soporte de aditivos para conservar las propiedades del producto o simplemente para mejorar su apariencia. El aumento

en el interés por el desarrollo de películas y cubiertas comestibles para incrementar la conservación de alimentos se debe fundamentalmente a las exigencias, cada vez mayores, de reducir el impacto en la contaminación ambiental que se ha producido con el incremento de desechos generados por el uso de envases y plásticos de origen sintético o no biodegradables para el empaque y distribución de alimentos. Por lo tanto se propone la elaboración de empaques biodegradables a partir de aislado de proteína de suero (WPI), obtenido como subproducto de la fabricación de quesos y productos lácteos, como materia estructural para disminuir significativamente la contaminación ambiental ocasionada por la incorporación del lactosuero en los afluentes de agua y la utilización de materiales de empaque no reciclables. Al mismo tiempo se permitirá alargar la vida de anaquel de productos frescos como el queso tipo cheddar y se mejorarán las propiedades mecánicas y sensoriales del alimento.

MATERIALES Y MÉTODOS

La materia prima utilizada para la fabricación de películas comestibles fue aislado de proteína de suero WPI (Now Sports-2174) con 96% de proteína y 4% de cenizas (base seca), glicerol (Sigma G-6279), cera de abeja, Tween 80 (polioxietileno sorbitano monooleato, Hycel de México, Cat 559) y agua destilada como disolvente. El material recubierto fue queso tipo cheddar suave de la marca Kirkland Signature, el cual se cortó en cubos de 2x2x2 cm. para su posterior inmersión en la suspensión filmogénica, se utilizó un control positivo (grenetina) y un control negativo (queso sin recubrir), se dejaron secar y posteriormente fueron envasados al vacío, y almacenados Temperatura ambiente 25 °C y Temperatura de refrigeración 5 °C, durante tres semanas para ser analizados mediante pruebas de análisis sensorial y TPA. Para la elaboración de la suspensión filmogénica se llevó a cabo la metodología propuesta por Pérez-Gago y Krochta (2001).

Permeabilidad al vapor de agua

La transferencia de vapor de agua a través de una película se calculó utilizando un método gravimétrico (Schultz y col., 1949, Debeaufort y col. 1993) de acuerdo al método ASTM E96-80.

Esfuerzo máximo a la penetración

El esfuerzo máximo a la penetración fue evaluado mediante la metodología propuesta por Pérez (1995). La prueba para medir la fuerza máxima a la tensión se realizó de acuerdo a método estándar ASTM D882-83. En estos análisis la velocidad del cabezal del texturómetro fue de 2.5 mm/s.

Análisis sensorial

Fue llevado a cabo mediante el uso de 15 panelistas no entrenados, a lo largo de tres semanas. Las muestras de queso fueron etiquetadas con una numeración de tres dígitos seleccionados al azar, puestas en charolas y acomodados en forma diferente para cada uno de los panelistas, a los cuales se les aplicó una encuesta referente a diversos parámetros como olor, textura, sabor, resabio, y la aceptación general del queso. Mediante el uso de una escala hedónica, donde la escala representa lo siguiente: 9 - gusta muchísimo, 8 - gusta mucho, 7 - gusta moderadamente, 6 - gusta un poco, 5 - me es indiferente, 4- disgusta un poco, 3- disgusta moderadamente, 2- disgusta mucho, 1- disgusta muchísimo.

Análisis de perfil de textura

Para el análisis de perfil de textura (TPA) se utilizó el texturómetro TA-XT2i (Texture Technologies, Scarsdale, Nueva York) acoplado a un software Texture Expert Versión 2.10 utilizando un plato de compresión (P/75). Se cortaron cubos de queso de 2x2x2cm los cuales estaban en la misma posición y dirección sobre la plataforma (Gutiérrez, 2004). Los parámetros que se utilizaron fueron los siguientes: velocidad del cabezal de 2 mm/seg, compresión 16 mm (80%), altura de la sonda de 25 mm, tiempo de espera entre los ciclos de 5 segundos (Gutiérrez, 2004).

Así mismo los resultados obtenidos se analizaron por medio de los paquetes estadísticos SPSS (versión 12.0) y SAS (versión 6.0), realizándose un análisis de varianza multifactorial y comparación entre medias mediante la prueba de Tukey empleando un 95% de confiabilidad para determinar las diferencias significativas entre los diferentes tipos de muestras.

RESULTADOS

La permeabilidad al vapor de agua de las películas a base de WPI se incrementó al aumentar la cantidad de plastificante. En el caso de la adición de la cera de abeja se observó que al ir aumentando la concentración de cera de abeja la permeabilidad al vapor de agua disminuyó. Los valores de permeabilidad al vapor de agua obtenidos en este trabajo oscilaron entre 1.437 E-11 y 2.83E-11 gm/m^2sPa . Estos valores son de 2 a 3 órdenes de magnitud menores que los presentados por las películas elaboradas a base de almidón de alta amilosa, gluten de trigo y aislado de proteína de soya y relativamente similares a los valores presentados en películas elaboradas con acetato de celulosa, celofán y poliéster (Gennadios *et al.*, 1994).

Los resultados de la medición del esfuerzo a la penetración mostraron que a medida que la concentración de glicerol se incrementó, se necesita un menor esfuerzo a la penetración del material, la concentración de cera provocó que las películas se vuelvan más frágiles y por tanto necesiten una menor fuerza a la penetración. Esto coincide con el trabajo realizado por Pérez-Gago y Krotcha (2001) donde reportaron que las propiedades mecánicas se vieron afectadas por la adición de lípidos, disminuyendo su resistencia a la tensión y punción. En este trabajo se obtuvieron resultados mucho menores que los encontrados por (García, 2004), en películas elaboradas con WPC que oscilan entre 2.4 y 4.8 N, mientras que los encontrados en este trabajo variaron de 1.13 a 1.85 N. Los valores del Módulo de Young variaron de 37.15 a 86.69 N/m². Se observó que al aumentar la cantidad de plastificante aumentó el esfuerzo a la tensión, mientras que la adición de lípidos (cera de abeja), ocasionó una disminución del Módulo de Young, lo que coincide con el trabajo de Pérez-Gago y Krotcha (2001).

Al aplicar la película en los quesos se observó que los panelistas no detectaron el recubrimiento. El color y olor fueron muy semejantes entre las tres muestras diferentes de queso y el consumidor no percibió diferencia significativa entre ellos.

Mientras que en el caso del sabor y textura el queso recubierto con la película a base de WPI presentó una aceptación significativamente mayor por parte del consumidor. El resabio y la textura del queso se vieron afectados por la temperatura en la que fueron almacenados en el caso de la temperatura ambiente en el caso del queso recubierto con la película a base de WPI estas características fueron ligeramente menores en comparación con las del queso sin recubrimiento, aunque cabe aclarar que estas características no fueron desagradables al consumidor. Por otra parte los quesos que fueron almacenados a temperatura de refrigeración mostraron una mayor aceptación por parte de los panelistas. En cuanto al análisis de perfil de textura se observó que tanto el tiempo de almacenamiento, la temperatura y el tipo de proteína influyeron sobre cada uno de los parámetros. En el caso de la dureza se observó una gran mejoría ya que el queso recubierto con WPI, presentó una menor pérdida de humedad, y esto conllevó a una menor dureza y a mejorar la vida de anaquel del queso.

CONCLUSIONES

Uno de los aportes más importantes de este trabajo es la mejoría en la conservación del queso tipo cheddar, el cual al pasar el tiempo presentó una menor dureza lo que ayuda a su preservación. Además de que sus características organolépticas son resaltadas, su costo es muy bajo, y con esto se ayudaría sustancialmente a la comercialización del queso por parte de los productores regionales de manera más amplia. La aplicación de las películas de WPI favorecería la incursión del producto en nuevos mercados, con una mayor aceptación por parte de los consumidores. De igual manera, promueve el uso de las proteínas del suero de leche, ya que este es un subproducto que es uno de los más altos contaminantes en la industria alimenticia, lo que reduciría la contaminación por este subproducto así como la disminución en el uso de los materiales de empaque sintéticos.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología del Estado de Guanajuato por el financiamiento otorgado a la presente investigación.

REFERENCIAS

- ASTM E96-80. 1980. Standard test method for water vapor transmission of materials. In ASTM book of standards.
- ASTM D882-83. 1983. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. In ASTM book of standards.
- Debeaufort F, Quezada-Gallo JA, Voilley G, 1998 Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. *Crit. Rev. Food Sci.* 38: 299-313.
- García, RA, 2004. Tesis "Elaboración de un empaque biodegradable activo contra *Listeria monocytogenes*. Santiago de Querétaro, Querétaro.
- Gennadios A., Weller C. L., Gooding C. H. 1994. Measurement errors in water vapor permeability of highly permeable, hydrophilic edible films. *J Food Eng.* 21:395-409.
- Gutierrez, M.A. 2004. *Quality Evaluation of Cheddar Cheese Containing Gamma-Oryzanol*, pp. 44-47, Louisiana
- McHugh, T. H. y Krochta, J. M. 1994. Sorbitol vs glycerol plasticized whey protein edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. *J. Agric. Food Chem.* 42:841-845.
- Perez-Gago, M.B., Krochta, J.M. 2001. Lipid particle size effect on water vapour permeability and mechanical properties of whey protein beeswax emulsion films. *J. Agric. Food Chem.*: Vol. 49: 996-1002.
- Pérez-Pérez, MC. 1995. Obtención, caracterización y evaluación de películas biodegradables a base de proteínas de gluten de trigo y etilcelulosa. Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Autónoma de Querétaro.
- Regalado-González, C., Pérez-Pérez, C., Lara-Cortés, E. y García-Almendarez, B. 2006. Whey protein based edible food packaging films and coatings. *Advances in Agricultural and Food Biotechnology.* (11) pp 237-261.
- Schultz T.H., Miers J.C., Owens H.S. y Maclay W.D. 1949. Permeability of pectinate films to water vapor. *J. Phys. Colloid Chem.* (53) pp. 1320-1329.

EMPREGO DE ATMOSFERA MODIFICADA NA CONSERVAÇÃO DA CARNE SUÍNA PORCIONADA E ACONDICIONADA EM EMBALAGENS DE TRANSPORTE TIPO MASTERPACK

Rosa, A.F.¹; Sobral, P.J.A.¹; Balieiro, J.C.C.²; Freire, M.T.A.¹; Tavoni, A.M.¹; Santos, S.F.¹; Nogueira, I.B.R.¹, Valadão, N.K.¹

¹ USP, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia de Alimentos.

² USP, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Departamento de Ciências Básicas.

¹ Av. Duque de Caxias Norte, 225, Jd. Elite. CEP13635-900 – Pirassununga, SP – Brasil
Tel. (5519)35654186 – Fax (5519)35654022. E-mail: afrosa@usp.br

Palavras chave: embalagens, carne suína, atmosfera modificada, shelf life.

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo o estudo preliminar do efeito da atmosfera modificada associada a embalagens de transporte tipo "masterpack", na vida útil da carne suína porcionada e refrigerada. Foram utilizados cortes de lombo suíno (*longissimus dorsi*), acondicionados em bandejas de poliestireno expandido, recobertas com filme de policloreto de vinila (PVC). Essas bandejas foram acondicionadas em embalagens secundárias de transporte tipo masterpack (6 bandejas por embalagem), sob 3 tipos de atmosfera modificada: a= 75%O₂+25%CO₂, b= 50%O₂+50%CO₂ e c=100%CO₂. As embalagens permaneceram em câmara frigorífica (2,0±1,0°C) durante todo o período experimental que foi de 14 dias. Em intervalos pré-determinados (1, 7 e 14 dias) foram realizadas análises microbiológicas e físico-químicas (pH, cor, perda de água por exsudação, maciez, e oxidação lipídica). Observou-se crescimento de psicrotóxicos aeróbios entre o primeiro e o sétimo dia de armazenamento, diferenças entre pH, cor, maciez e TBARS entre os tratamentos e dias de armazenagem. Pode-se concluir, a partir dos resultados preliminares deste experimento, que a utilização de CO₂ nas composições gasosas inibiu o crescimento microbiano, porém afetando negativamente a cor da carne, e que a utilização de altas concentrações de O₂ promoveu a manutenção da cor da carne por até 14 dias de armazenamento.

INTRODUÇÃO

Um dos principais problemas da indústria da carne é a manutenção da qualidade primária da carne, procurando retardar ao máximo, sua deterioração durante o processo comercial. A perda de qualidade da carne pode ocorrer principalmente devido ao crescimento microbiano, à descoloração, a rancificação e à desidratação superficial (Sarantópoulos et al., 2002). Portanto, é necessária a compreensão dos principais mecanismos das degradações *post mortem*, para que estas possam ser minimizadas.

Apesar de ter sido reportado que a cor da carne é alterada pelas condições de acondicionamento (Sørheim et al., 1995), a atmosfera gasosa que circunda a carne é um dos mais importantes fatores que afetam sua cor nos processos de estocagem e distribuição, principalmente quando associada à presença de microorganismos, temperatura e pH (Lanari et al., 1995). A utilização de embalagens com atmosfera modificada é uma tecnologia utilizada para estender a vida útil (*shelf life*) de uma gama de alimentos, dentre estes, a carne fresca, ou *in natura* (Luno et al., 2000; Cayuela et al., 2004). Recentes avanços na utilização de embalagens com atmosfera modificada têm sido focados na descoberta de uma correta mistura de gases que possam maximizar a manutenção da cor inicial, o tempo de vida útil dessas carnes e, ao mesmo tempo, minimizar o crescimento microbiano e a oxidação lipídica (Mancine & Hunt, 2005).

O objetivo deste trabalho foi o estudo preliminar do efeito da atmosfera modificada associada a embalagens de transporte tipo "masterpack", na vida útil da carne suína porcionada e refrigerada.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados para testes preliminares, cortes cárneos de suínos abatidos no matadouro-escola pertencente à PCAPS. Para este estudo foram selecionadas 9 carcaças suínas que tiveram valores de pH dentro da classe considerada normal, ou seja, pH inicial $\geq 6,0$ e pH final entre 5,3 - 5,6 (Buys, 2004). As carcaças permaneceram por, aproximadamente, 24 horas em câmara fria à 0-2°C, para instalação e resolução do *rigor mortis*. Nas carcaças previamente selecionadas, foram feitos cortes entre a 4ª e 5ª costelas de cada meia carcaça para remoção dos lombos (*longissimus dorsi*), os quais foram desossados, em sala climatizada (13°C), e fatiados em bifes.

Os bifes foram colocados em uma bandeja de poliestireno expandido com absorvedor de purga, sendo três "bifes" por bandeja, as quais foram recobertas com filme de policloreto de vinila (PVC). As bandejas, com os bifes, foram colocadas nos masterpacks (6 bandejas por masterpack). As medidas dos masterpacks foram: 78,5 x 48,5 cm, com 0,35m² de área de permeação, com estrutura multicamadas composta por EVA (etini-vinil-acetato), PEBD (polietileno de baixa densidade) e PVDC (Policloreto de Vinilideno), com camada de barreira ac O₂ e vapor de água. As principais propriedades desse filme foram (de acordo com o fabricante, Cryovac): espessura, de 48 a 62 μm ; taxa de permeabilidade (máxima) ao O₂ de 30 cm³/m².dia (1atm/23°C/0%UR); e taxa de permeabilidade (máxima) ao vapor d'água de 10 gH₂O/m².dia (1atm/38°C/90%UR).

As embalagens masterpack foram fechadas com uma seladora (mod. A 300, marca CVP) operando com dois ciclos de vácuo e injeção de atmosfera a 3,5 kgf/cm². Foi utilizada uma relação 3:1 de volume de gás por kg de carne. Foram estudadas três composições de atmosfera modificada, a saber:

- 75% O₂ + 25% CO₂;
- 50% O₂ + 50% CO₂
- 100% CO₂.

As embalagens tipo masterpack foram acondicionadas em caixas plásticas e colocadas em uma câmara fria localizada no Laboratório de Carnes, anexo ao Matadouro-Escola da PCAPS, a 2±1°C, por todo o período experimental, que foi de 14 dias. Durante esse período, em intervalos pré-determinados de 7 dias que corresponderam a 1, 7 e 14 dias de estocagem, alguns masterpacks foram retirados da câmara fria, abertos e as bandejas encaminhadas para as análises físico-químicas e microbiológicas.

Análises Microbiológicas

Foram realizadas análises para determinação de microorganismos psicrotóxicos aeróbios nos intervalos pré-determinados, durante todo o período experimental, segundo metodologia de Venturini (2003).

Análises Físico-químicas

O pH e a temperatura da carne foram determinados com auxílio de um medidor digital portátil de pH, com sonda de perfuração de vidro e de temperatura, com sonda metálica (marca Novatécnica; modelo NT-PHP).

A cor da carne foi determinada com o auxílio de um colorímetro portátil (mod. MiniScan XE, marca HunterLab), através da escala L*, a*, b*, do sistema CIE Lab, com fonte de luz de D₆₅, ângulo de observação de 10° e abertura da célula de medida de 30 mm.

Para a determinação da Força de Cisalhamento (maciez), foi utilizada a metodologia proposta por Koohmaraie et al. (1998) e, para a determinação da oxidação lipídica (análise de TBARS), foi utilizada a metodologia proposta por VYNCKE et al. (1970).

Delineamento experimental

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com composição de tratamentos em esquema fatorial 3 x 3, ou seja, 3 tratamentos (A, B e C) e 3 tempos de análise (1, 7 e 14 dias), havendo 3 repetições para cada combinação tratamento x tempo de análise. Na análise estatística dos resultados, foi utilizado o programa GLM do SAS (2000) e, no teste de médias, o teste de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises microbiológicas para microrganismos psicrotróficos aeróbicos estão apresentados na Figura 1. Nota-se que houve crescimento exponencial do primeiro para o sétimo dia de armazenamento, havendo um decréscimo do 7° para o 14° dia. Percebe-se ainda um efeito claro das misturas gasosas utilizadas, sendo que, nos tratamentos com maior concentração de CO₂, houve inibição do crescimento microbiano. Contrariamente, Viana et al. (2005) relataram que as altas concentrações de CO₂ não inibiram o crescimento microbiano mais que as outras composições testadas (100% CO₂, 99% CO₂ + 1% CO, 100% O₂ e 100% CO).

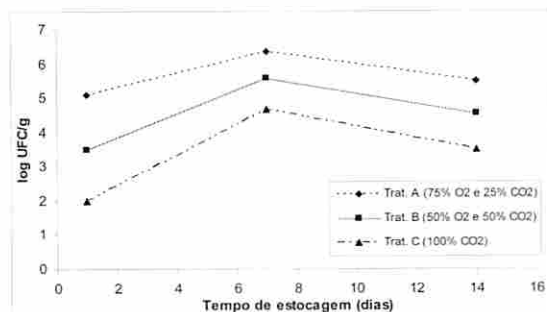


Figura 1. Evolução de psicotróficos durante o período de estocagem.

De acordo com MILANI et al. (2003), o armazenamento de carnes e produtos cárneos refrigerados, recobertos com película permeável ao oxigênio, origina um elevado potencial redox na superfície da carne, apropriado para o desenvolvimento de microrganismos aeróbicos psicrotróficos. Embora a contagem destes microrganismos indique o grau de deterioração de alimentos refrigerados, a legislação brasileira não estabelece padrão para estes microrganismos. Sabe-se que contagens microbiológicas elevadas, acima de 10⁶ UFC/g, indicam que o produto cárneo encontra-se em condições insatisfatórias para o consumo, o que se verificou nas amostras provenientes dos masterpack com altas concentrações de O₂.

De maneira geral, um dos principais fatores que determinam a vida útil de um alimento é a carga microbiana inicial. Porém, de acordo com Mano et al. (2002), para alimentos embalados com atmosfera modificada, mais importante que a contagem microbiana inicial, é a adaptação da microbiota presente às condições que encontra no alimento as quais lhe permitirão multiplicar-se. Segundo esses mesmos autores, os microrganismos sensíveis ao CO₂ em uma carne embalada com 40% deste gás, não conseguirão multiplicar-se e terão pouca significância na vida útil do produto. Em contrapartida, uma pequena população de bactérias psicrotróficas resistentes ao CO₂ poderá multiplicar-se ativamente e provocar a alteração do alimento em um tempo relativamente curto. Viana et al. (2005), trabalhando com diferentes concentrações de CO₂ e O₂

durante 20 dias, observaram maior crescimento de psicrotróficos em atmosferas com 100% Oxigênio.

Os resultados das análises físico-químicas estão apresentados nas Tabelas 1, 2 e 3. A Tabela 1 contém a análise estatística descritiva das variáveis analisadas, e as Tabelas 2 e 3, o teste de médias observado para cada variável por tratamento e dias de armazenagem, respectivamente.

De maneira geral, os valores médios apresentados na Tabela 1, estão dentro da normalidade, com exceção das variáveis PAE e TBARS que tiveram coeficiente de variação bastante elevado e também a maciez que, estranhamente, apresentou um valor mais elevado (5,7 kgf).

Tabela 1. Número de observações (N), Média, Desvio Padrão (DP), Coeficiente de Variação (CV), Mínimo e Máximo das variáveis estudadas.

Variável	N	Média	D.P.	CV.	Mínimo	Máximo
pH inicial	27	5,5	0,1	1,2	5,3	5,6
pH final	27	5,5	0,1	1,5	5,3	5,7
PAE (%)	22	3,1	2,2	69,9	0,4	7,8
L* inicial	27	62,9	2,6	4,1	56,7	66,8
a* inicial	27	5,0	1,1	22,5	3,0	6,6
b* inicial	27	13,6	0,5	4,0	12,3	14,6
L* final	27	66,5	2,8	4,2	61,9	71,5
a* final	27	6,9	1,9	27,5	3,3	10,4
b* final	27	16,0	0,8	5,0	14,4	17,1
Maciez (kgf)	27	4,0	1,1	28,3	1,8	5,7
TBARS (mg/kg) ¹	24	1,1	0,7	54,9	0,1	2,3

* mg malonaldeído/kg amostra

Os resultados da análise de variância permitiram observar que não houve diferença significativa (P<0,01) entre as variáveis iniciais estudadas. Este fato é muito positivo e demonstra que as características individuais dos animais utilizados neste experimento foram isoladas, justificando-se o cuidado em selecionar as carcaças baseando-se na queda do pH. Dessa forma ficou garantido que as diferenças observadas durante o experimento não sofreram influência proveniente dos suínos.

Observou-se também, efeito significativo para todas as variáveis analisadas durante o período experimental, sendo que para o pH final, maciez e TBARS, houve efeito de dias de armazenagem (P<0,05), para as variáveis de cor, e efeito significativo de tratamento para as variáveis a* e b* (P<0,05) e de dias para L* e a* (P<0,01).

Tabela 2. Valores médios das variáveis estudadas apresentados por Tratamentos

Variáveis	Tratamentos*		
	A	B	C
pH fin	5,5 ^A	5,5 ^A	5,5 ^A
L* fin	66,6 ^A	66,7 ^A	66,2 ^A
a* fin	7,7 ^A	7,4 ^A	5,6 ^B
b* fin	16,4 ^A	16,2 ^{AB}	15,5 ^B
Maciez (kgf)	3,9 ^A	4,0 ^A	4,13 ^A
TBARS (mg/kg) ¹	1,5 ^A	1,3 ^A	1,1 ^A

*Letras maiúsculas na mesma linha iguais não diferem pelo teste de Tukey (P<0,05); ¹ mg malonaldeído/kg amostra

Na Tabela 2, observa-se que houve diferenças entre os valores médios determinados nos tratamentos apenas para as variáveis a* final e b* final. Para a variável a*, observa-se que os tratamentos A e B, os quais continham Oxigênio em sua composição, tenderam a apresentar a carne com coloração mais avermelhada, justificado por valores de a* superiores (-7,4) enquanto que o Tratamento C, que não tinha O₂, teve as amostras de carne com cor mais amarronzada e valores de a* inferiores (5,6). Sorheim et al. (1997) testaram atmosferas gasosas contendo 100% de CO₂ com 0, 0,5 e 1,0% de Oxigênio residual em sua composição e observaram que as embalagens com maiores concentrações de oxigênio tiveram menores valores de a*. Esses autores sugeriram que baixas concentrações de O₂ promovem a descoloração da superfície da carne pelo acúmulo de metamioglobina. Neste estudo, apesar de não ter sido verificada a composição gasosa no interior das

embalagens, supõe-se que houve a presença de oxigênio residual, o que contribuiu para a aparência amarronzada na superfície das carnes. Ainda na Tabela 2, observa-se que a variável b* apresentou valores superiores para os tratamentos A e B (~16,3) e inferiores para C (15,5).

Tabela 3. Valores médios das variáveis estudadas apresentados por dias de armazenagem.

Variáveis	Dias*		
	1	7	14
pH fin	5,5 ^B	5,5 ^B	5,6 ^A
L* fin	64,1 ^B	67,2 ^A	68,2 ^A
a* fin	8,2 ^A	6,7 ^{AB}	5,8 ^B
b* fin	16,0 ^A	15,7 ^A	16,3 ^A
Maciez (kgf)	5,2 ^A	3,7 ^B	3,2 ^B
TBARS (mg/kg) ¹	0,2 ^B	1,6 ^A	1,7 ^A

*Letras maiúsculas na mesma linha iguais não diferem pelo teste de Tukey (P<0,05); ¹ mg malonaldeído/kg amostra

Entre os dias de armazenagem, observa-se na Tabela 3 que houve diferença significativa para pH final, L* final, a* final, maciez e TBARS. O pH final teve valores médios no 14º dia de armazenagem levemente superiores (5,6) aos 1º e 7º dias, que não apresentaram diferença entre si (5,5). Mano et al. (2005) relataram que o pH manteve-se estável durante o período experimental avaliado (54 dias) e próximo a 5,4.

Notou-se também aumento nos valores de L* do 1º (64,1) para o 7º dia (67,2), não havendo diferença entre este e o 14º dia de armazenagem. Sorheim et al. (1997) também observaram que os valores de L* aumentaram até o 7º dia, estabilizando-se até o final do experimento (21 dias). Vianna et al. (2005) observaram diminuição dos valores de L* durante os dias de estocagem. Com relação ao cor a*, observou-se uma diminuição gradual durante os dias de estocagem, provavelmente por acúmulo de metamioglobina na superfície das carnes. Os valores médios foram 8,2; 6,6 e 5,8 para o 1º, 7º e 14º dia de estocagem, respectivamente.

Pode-se observar ainda na comparação entre os valores médios de maciez, que do primeiro (5,2 kgf) para o 7º dia (3,7 kgf), houve um aumento da maciez (redução da força de cisalhamento), fato já esperado, uma vez que é sabido que, com aumento do tempo de armazenagem, ocorre proteólise das proteínas miofibrilares com conseqüente aumento da maciez. No entanto, entre o 7º e 14º dia, não houve diferença significativa na maciez da carne. Com relação aos valores de TBARS, apesar de não ter observado diferença entre os tratamentos, nota-se aumento significativo do primeiro (0,25 mg/kg) para o 7º dia (1,65 mg/kg) estabilizando-se a seguir.

CONCLUSÃO

Os resultados preliminares deste experimento permitem concluir que a utilização de CO₂ nas composições gasosas inibe o crescimento microbiano, porém afetando negativamente a cor da carne, e que a utilização de altas concentrações de O₂ promove a manutenção da cor da carne por até 14 dias de armazenagem.

AGRADECIMENTOS

A FAPESP, pelo auxílio (06/54338-9) e pela bolsa Di (06/50025-6) da primeira autora.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Buyts, E.M. 2004. Colour changes and consumer acceptability of bulk packaged pork retail cuts stored under O₂, CO₂ and N₂. *Meat Sci.*, 68: 641-647.
- Cayuela, J.M.; Gil, M.D.; Bañon, S.; Garrido, M.D. 2004. Effect of vacuum and modified atmosphere packaging on the quality of pork loin. *Eur. Food Res. Technol.*, 219:316-320.
- Koohmaraie, M.; Wheeler, T.L.; Shackelford, S.P. 1998. Beef tenderness: regulation and prediction. Center, NE: USDA-ARS, US Meat Animal Research Center 90 p.
- Lanari, M.C.; Schaefer, D.M.; Scheller, K.K. 1995. Dietary Vitamin E supplementation and discoloration of pork bone and muscle following modified atmosphere packaging. *Meat Sci.*, 41:237-250.
- Luno, M.; Roncalés, P.; Djenane, D.; Beltrán, J.A. 2000. Beef shelf life in low O₂ and high CO₂ atmospheres containing different low CO concentrations. *Meat Sci.*, 55:413-419.
- Mancini, R.A.; Hunt, M.C. 2005. Current research in meat colour. *Meat Sci.*, 71:100-121.
- Mano, S.B.; Pereda, J.A.O.; Fernando, G.D.G. 2002. Aumento da vida útil e microbiologia da carne suína embalada em atmosfera modificada. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 22:1-10.
- Milani, L.I.G.; Fries, L.L.M.; Paz, P.B.; Bellé, M.; Terra, N.N. 2003. Bioproteção de lingüiça de frango. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 23:161-166.
- SAS Institute Inc. 2000. SAS/STAT[®] OnlineDoc[®], Version 8. Copyright ©2000.
- Sarantópoulos, C.I.G.L.; Oliveira, L.M.; Padula, M.; Coltro, L.; Alves, R.M.V. & Garcia, E.E.C. 2002. Embalagens plásticas flexíveis. Principais polímeros e avaliação de propriedades. Campinas: CETEA/ITAL.
- Sorheim, O.; Erlandsen, T.; Nissen, H.; Lea, P.; Høyem, T. 1997. Effects of modified atmosphere storage on colour and microbiological shelf life of normal, pale and exsudative pork. *Meat Sci.*, 47:147-155.
- Sorheim, O.; Lea, P.; Andersen, A.K.; Hanstol, J. 1995. Color of beef loins stored in carbon dioxide with oxygen scavengers. In: P. Ackerman, M. Tagerstad, & T. Ohlsson Trends in packaging materials - chemical interactions Lund, Sweden: Royal Soc. Chem. pp: 217-228.
- Venturini, A.C. 2003. Embalagens de transporte (masterpack) com atmosfera modificada e absorvedores de oxigênio para aumento de vida útil da carne bovina. Dissertação (mestrado) ESALQ/USP, Piracicaba/SP, 103p.
- Viana, E.S.; Gomide, L.A.M.; Vanetti, M.C.D. 2005. Effect of modified atmospheres on microbiological, color and sensory properties of refrigerated pork. *Meat Sci.*, 71: 696-705.
- Vyncke, W. 1970. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. *Fette-Seifen Anstrichmittel*, 72(12):1084-1087.

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES A BASE DE GELATINA COLORIDOS COM CLOROFILA.

Corat, Michele; Carvalho, Rosemary A.; Fávoro-Trindade, Carmen S.; Sobral, Paulo J.A.
Departamento de Engenharia de Alimentos – FZEA- UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Av. Duque de Caxias Norte, 225 - CEP 13635-900 - Pirassununga/SP. Brasil E-mail: pjsobral@usp.br

Palavras chaves: filmes comestíveis, propriedades físicas, proteína, pigmento, macromolécula.

RESUMO

O interesse por filmes comestíveis e/ou biodegradáveis tem crescido muito nos últimos anos. Dentre as macromoléculas utilizadas na produção desses materiais, as proteínas têm sido muito estudadas devido às suas excelentes propriedades funcionais, e também por se tratar de matéria prima de fonte renovável. Particularmente, a gelatina é uma das proteínas mais estudadas, por ser produzida em abundância e de custo relativamente baixo. Os filmes de gelatina são praticamente incolores, por isso, a adição de pigmento pode ser interessante, na medida em que ao conferir cor, pode torná-lo mais atrativo. Assim, o objetivo deste projeto foi o desenvolvimento de filmes comestíveis à base de gelatina, coloridos com clorofila e verificar o efeito da incorporação deste pigmento nas propriedades físicas do filme. Foram produzidos filmes de gelatina com a adição de clorofila comercial em 0, 2, 4, 6, 8 e 10g de clorofila (em solução 10%/100 g de gelatina). Esses filmes foram pré-condicionados em 58% de umidade relativa a 25°C, e caracterizados em relação à umidade, solubilidade, propriedades mecânicas, cor e opacidade. De maneira geral, o aumento da concentração de clorofila aumentou significativamente, a coloração dos filmes, sem, contudo afetar necessariamente as outras propriedades físicas estudadas.

INTRODUÇÃO

Estudos envolvendo a produção e caracterização de filmes comestíveis e/ou biodegradáveis a partir de matéria prima de fontes renováveis estão sendo intensificados nos últimos anos. Dentre as macromoléculas utilizadas na produção de filmes, as proteínas apresentam grande potencial de aplicação, devido às suas propriedades funcionais.

A gelatina foi uma das primeiras macromoléculas utilizadas na produção de filmes e vem sendo amplamente estudada para esse fim em função das suas propriedades funcionais, produção em larga escala a preços competitivos (Carvalho e Grosso, 2004,2006; Thomazine et al., 2005; Vanin et al., 2005; Sobral et al., 2001). Os filmes à base de proteína, incluindo a gelatina, de um modo geral, apresentam excelente barreira a gases e boas propriedades mecânicas e ainda podem, adicionalmente, funcionar como suporte de substâncias ativas (antioxidantes, agentes antimicrobianos, etc). Entretanto, estudos envolvendo a incorporação de aditivos funcionais nesses materiais ainda são incipientes. Por exemplo, até o presente momento, nenhum filme comestível foi desenvolvido contendo um pigmento natural, como a clorofila.

As clorofilas são os pigmentos naturais mais abundantes presentes nas plantas, ocorrendo nos cloroplastos das folhas e em outros tecidos vegetais, sendo muito comum em legumes e várias frutas (Streit et al., 2005). As clorofilas são moléculas formadas por complexos derivados da porfirina (Figura 1), tendo como átomo central o Mg (Von Elbe, 2000). Elas apresentam, portanto, caráter hidrofóbico, mas podem ser modificadas para se tornarem hidrofílicas, como a clorofilida. Essa clorofila hidrossolúvel pode então ser adicionada nas soluções formadora de filmes, o que pode deixar esses filmes mais atrativos.

Assim, o objetivo deste projeto foi o desenvolvimento de filmes comestíveis à base de gelatina, coloridos com clorofila, o que permitirá a elaboração de uma embalagem mais atrativa. Dessa forma, pretendeu-se verificar o efeito da adição desse pigmento sobre as principais propriedades físicas dos filmes de gelatina.

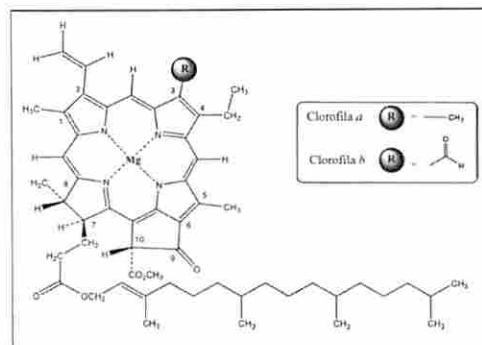


Figura 1: Estrutura química da clorofila (Streit et al., 2005).

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Utilizaram-se, neste trabalho, gelatina de pele suína, fornecida pela indústria Gelita South América (São Paulo, Brasil), sorbitol (Synth), como plastificante, e o pigmento clorofila 70008 (solução 10%) fornecido pela indústria Germinal aditivos para alimentos (Cabreúva, Brasil).

Produção do filme

Os filmes foram produzidos a partir de soluções filmogênicas (SF) com 2g de gelatina/100g de SF e 25g de sorbitol/100g de gelatina. Inicialmente, a gelatina foi hidratada por um período de 30 min., à temperatura ambiente, sendo em seguida, solubilizada a 55°C em um banho termostático (TE 184 - Tecnal) (Sobral et al., 2001). Após a solubilização, o plastificante, previamente solubilizado em água, e o pigmento clorofila (forma solúvel - clorofilida), foram adicionados. Para se estudar o efeito da adição do pigmento, esse era adicionado para se proporcionar concentrações de 0, 2, 4, 6, 8 e 10 g da solução de clorofila/100 g de gelatina.

A SF foi dispersa em placas de acrílico (12 x 12 cm²) e submetida à secagem em estufa com circulação de ar (MA 037 – TECNAL) a 30°C por cerca de 24h. A espessura dos filmes foi determinada com um micrômetro digital Mitutoyo (\pm 0,001mm), ficando entre 0,075 e 0,081mm.

Os filmes foram condicionados em dessecadores contendo NaBr (umidade relativa de 58%) a 25°C, por 7 dias, pelo menos, antes das caracterizações. A caracterização dos filmes (propriedades mecânicas, solubilidade, umidade, de barreira ac vapor de água e óptica) foi realizada em sala climatizada com temperatura na faixa de 22 \pm 3°C e umidade relativa entre 55 e 65%.

Determinação da umidade

A umidade (Um) dos filmes foi determinada em estufa a 105°C até peso constante.

Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas (tensão na ruptura, elongação na ruptura e módulo elástico) dos filmes foram determinadas por teste de tração, utilizando-se um texturômetro TA.XT2i (Stable Micro Systems) com sonda Tensile Grips, movendo-se a em 0,9 mm/s, de acordo com Thomazine et al. (2005).

Cor e opacidade

Os parâmetros de cor (a*, b* e L*), a diferença total de cor (ΔE^*), e a opacidade foram determinados de acordo com Sobral et al. (2001) utilizando-se um colorímetro Miniscan XE (HunterLab). Os parâmetros a*, b* e L* foram determinados sobrepondo-se os filmes sobre um padrão branco, e a diferença

total de cor foi determinada de acordo com a Equação 1 (Gennadios et al., 1996).

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{0.5} \quad (1)$$

Onde: $\Delta L^* = L^*_{\text{padrão}} - L^*_{\text{amostra}}$, $\Delta a^* = a^*_{\text{padrão}} - a^*_{\text{amostra}}$, e $\Delta b^* = b^*_{\text{padrão}} - b^*_{\text{amostra}}$.

A opacidade foi determinada de acordo com Sobral (2000), utilizando-se o mesmo aparelho e programa computacional usados nas medidas de cor. A opacidade foi calculada como a relação entre a opacidade do filme sobreposto sobre o padrão preto (Y_p) e sobre o padrão branco (Y_b) ($Y = Y_p/Y_b$).

Solubilidade

A solubilidade dos filmes em água foi determinada após 24 horas de imersão, de acordo com Gontard et al. (1993), sendo expressa em termos de massa seca solubilizada.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada para comparação das médias dos resultados, através do teste Duncan ($\alpha=5\%$) utilizando-se o programa computacional SAS (versão 6.8, SAS Inc., Carry, N.C., USA).

RESULTADOS

Umidade

De um modo geral, pode-se observar que, embora tenha havido diferenças significativas entre alguns resultados, não houve efeito direto da concentração do pigmento sobre a higroscopicidade dos filmes. Os valores da umidade dos filmes produzidos neste trabalho foram similares aos determinados por Thomazine et al. (2005), para filmes à base de gelatina plastificados com sorbitol, sob as mesmas condições de acondicionamentos.

Tabela 1: Umidade dos filmes de gelatina/sorbitol com diferentes concentrações de clorofila.

Concentração de Clorofila* (g/100g de gelatina)	Umidade (g de água/100g de filme)
0	12,2±1,0 ^{bc}
2	13,1±1,2 ^{ab}
4	13,3±1,4 ^{abc}
6	12,0±0,7 ^c
8	13,8±1,3 ^a
10	12,6±1,6 ^{abc}

*Clorofila solúvel (solução 10%) = g/100g de gelatina

Solubilidade

A adição de clorofila, de um modo geral, não afetou significativamente a solubilidade em água dos filmes (Tabela 2). Os resultados de solubilidade em água obtidos neste trabalho foram ligeiramente superiores aos observados por Carvalho e Grosso (2004, 2006), para filmes à base de gelatina modificada química e enzimaticamente (25 a 30g/100g de filme), e plastificados com glicerol.

Tabela 2: Solubilidade em água dos filmes de gelatina/sorbitol com diferentes concentrações de clorofila.

Concentração de Clorofila* (g/100g de gelatina)	Solubilidade (g/100g de filme)
0	38,6 ± 1,3 ^a
2	44,1 ± 3,5 ^a
4	36,0 ± 2,8 ^a
6	41,6 ± 2,0 ^a
8	40,2 ± 3,0 ^a
10	40,1 ± 1,9 ^a

*Concentração de clorofila (solução 10%) = g/100g de gelatina

Propriedades Mecânicas

Pode-se observar na Tabela 3, que a adição do pigmento no filme provocou uma pequena queda na sua resistência, embora não tenha havido uma relação direta entre a concentração do pigmento e a tensão na ruptura, cujos valores foram similares aos obtidos por Thomazine et al. (2005) para filmes à base de gelatina plastificados com sorbitol (25g de sorbitol/100g de gelatina).

Por outro lado, observou-se que o aumento da concentração de clorofila provocou um aumento significativo da elongação na ruptura. Aparentemente, a incorporação da clorofila aumenta a mobilidade da matriz polimérica, devido sua estrutura e possíveis interações com a proteína, comportamento esse típico de agentes plastificantes. Os valores da elongação na ruptura, independente da adição de clorofila, foram superiores aos observados por Thomazine et al. (2005).

Tabela 3: Efeito da variação da concentração de clorofila em filmes à base de gelatina na tensão na ruptura (T), elongação na ruptura (E) e módulo elástico (ME).

C. de Clor*	T (MPa)	E (%)	ME (MPa)
0	53,0±4,0 ^a	11,3±3,4 ^d	18,1±3,9 ^a
2	45,6±4,1 ^c	15,2±3,8 ^c	13,6±1,1 ^b
4	50,1±5,3 ^{ab}	24,1±4,0	13,9±1,3 ^b
6	47,7±3,0 ^{bc}	18,8±4,7 ^b	13,9±0,9 ^b
8	48,9±6,5 ^{bc}	20,1±5,8 ^b	13,7±1,3 ^b
10	50,9±6,5 ^{ab}	23,8±3,0 ^a	13,9±1,4 ^b

*Concentração de clorofila (solução 10%) = g/100g de gelatina.

Em relação ao módulo elástico, propriedade que indica a rigidez do material, verificou-se que a incorporação da clorofila provocou uma diminuição do mesmo, porém o aumento da concentração não provocou variações significativas.

Parâmetros de cor e opacidade

A adição da clorofila provocou alterações significativas nos parâmetros a^* e b^* (Figura 2), sem, contudo, afetar o parâmetro L^* que permaneceu praticamente constante, em torno de 91, o que equivale praticamente ao parâmetro do padrão branco, usado como suporte.

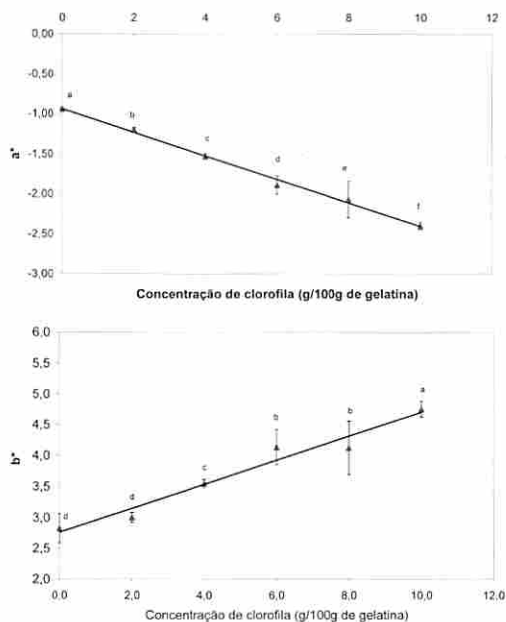


Figura 2: Parâmetros a^* (em cima) e b^* (em baixo) dos filmes de gelatina/sorbitol com diferentes concentrações de clorofila.

O parâmetro a^* , que varia do verde (-) ao vermelho (+), diminuiu linearmente com a concentração do pigmento (x) (Equação 2), indicando que, efetivamente, o material se torna mais verde com o aumento da concentração do pigmento, como era de se esperar. Por outro lado, o parâmetro b^* , que varia do azul (-) ao amarelo (+), aumentou com a concentração do pigmento (Equação 3).

$$a^* = -0,15 x - 0,94 \quad (R^2=0,995) \quad (2)$$

$$b^* = 0,19 x + 2,76 \quad (R^2=0,961) \quad (3)$$

Da mesma forma, observou-se que o aumento da concentração de clorofila provocou um aumento linear (Equação 4) da diferença total de cor (Figura 3). Isso significa que os filmes aditivados ficaram, evidentemente, mais coloridos à medida que se aumentava a concentração do pigmento.

$$\Delta E^* = 0,24x + 2,97 \quad (R^2=0,981) \quad (4)$$

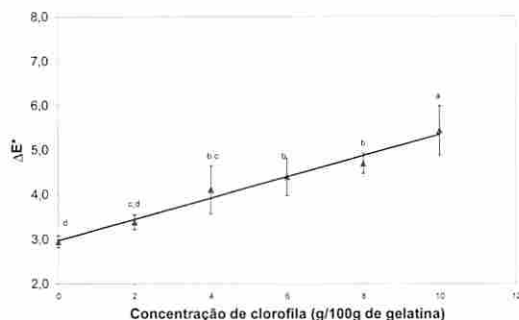


Figura 3: Diferença de cor (ΔE^*) dos filmes de gelatina/sorbitol com diferentes concentrações de clorofila.

Os filmes produzidos neste trabalho foram evidentemente mais coloridos (maiores valores de ΔE^*) que filmes a base de diversas proteínas, sem adição de pigmentos, como a gelatina ($\Delta E^* \approx 3$) (Vanin et al., 2005) e ovoalbuminas ($\Delta E^* = 1,7-2,3$) (Gennadios et al., 1996), mas mesmo assim, menos coloridos que filmes a base de proteínas proteínas miofibrilares de Tilápia do Nilo ($\Delta E^* = 7-8$) (Sobral, 2000) ou de proteínas de soja ($\Delta E^* = 8,5-11,6$) (Kunte et al., 1997).

Em relação à opacidade, observou-se que o aumento das concentrações de clorofila no filme de gelatina, não afetou significativamente (Figura 4) a opacidade do material. Logo, pode-se sugerir que a inclusão da clorofila na formulação dos filmes, nas concentrações estudadas, não afetou a translucidez dos filmes, que continua similar à do filme de gelatina pura. Este resultado é importante na medida em que o produto que será eventualmente acondicionado nesse tipo de filme, será visualizado sem dificuldades pelo consumidor.

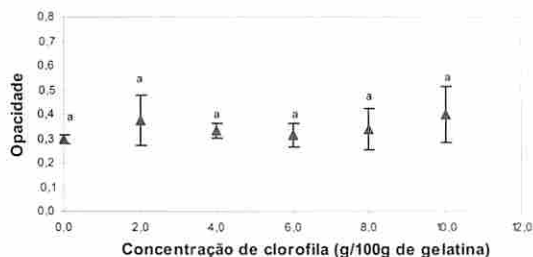


Figura 4: Opacidade dos filmes de gelatina/sorbitol com diferentes concentrações de clorofila.

CONCLUSÕES

A utilização da clorofila como pigmento natural, na coloração de filmes à base de gelatina é perfeitamente viável, do ponto de vista tecnológico. A presença da clorofila na matriz polimérica não provoca perda da qualidade do material, proporcionando uma nítida coloração. Entretanto, essa coloração é pouco visível, provavelmente em virtude da alta transparência dos filmes. Mais estudos são necessários para se elucidar esse efeito, e se verificar as propriedades de barreira à luz desses filmes.

Este estudo trata de um tema inovador dentro da tecnologia de filmes comestíveis e/ou biodegradáveis, pois não se encontraram na literatura especializada, trabalhos com pigmentação desse tipo de material, utilizando-se pigmentos naturais.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP, pelo financiamento (05/57781-8), e ao CNPq pela bolsa IC (PIBIC) de MC e PQI de PJAS.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS

- Carvalho, R.A.; Grosso, C.R.F. 2006. Properties of chemically modified gelatin films. *Braz. J. of Chem. Eng.*, 23(1):45-53.
- Carvalho, R.A.; Grosso, C.R.F. 2004. Characterization of gelatin based films modified with transglutaminase, glyoxal and formaldehyde. *Food Hydroc.*, 18:717-726.
- Gennadios, A.; Weller, C.L.; Handa, M.A.; Froning, G.W. 1996. Mechanical properties of egg albumen films. *J. of Food Sci.*, 61(3):585-589.
- Gontard, N.; Guilbert, S.; Cuq, J.-L. 1993. Water and glycerol as plasticizers effect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. *J. of Agric. and Food Chem.*, 58:206-211.
- Kunte, L.A., Gennadios, A., Cuppett, S.L., Hanna, M.A., Weller, C.L. 1997. Cast films from soy protein isolates and fractions. *Cereal Chem.*, 74(2):115-118.
- Sobral, P.J.A. 2000. Influência da espessura sobre certas propriedades de biofilmes à base de proteínas miofibrilares. *Pesq. Agropec. Brasil.*, 35:1251-1259.
- Sobral, P.J.A.; Menegalli, F.C.; Hubinguer, M.D.; Roques, M.A. 2001. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. *Food Hydroc.*, 15:423-32.
- Streit, M.N.; Canterle, L.P.; Canto, M.W.; Hecktheuer, L.H.H. 2005. As clorofilas. *Ciência Rural*, 35:748-755.
- Thomazine, M.; Carvalho, R.A.; Sobral, P.J.A. 2005. Physical properties of gelatin films plasticized by blends of glycerol and sorbitol. *J. of Food Sci.*, 70:172-176.
- Vanin, F.M.; Sobral, P.J.A.; Menegalli, F.C., Carvalho, R.A.; Habitante, A.M.Q.B. 2005. Effects of plasticizers and their concentrations on thermal and functional properties of gelatin based films. *Food Hydroc.*, 70:172-176.
- Von Elbe J.H. 2000. Colorantes. In: Fennema, O.W. *Química de los alimentos*. 2 ed. Zaragoza: Wisconsin- Madison. pp.782-799.

VISCOELASTICIDAD DE SOLUCIONES FILMOGÉNICAS DE ALMIDÓN OXIDADO DE PLÁTANO Y GLICEROL.

Cervantes Montoya, Kathleen Misarai¹; Sánchez Rivera, Mirna^{2*}; López González, Carlos²; Bello Pérez, Luis Arturo^{2*} y Solorza-Feria, Javier^{2*}.

¹Centro Universitario de la Ciénega, Universidad de Guadalajara, México.

²Centro de Desarrollo de Productos Bióticos del IPN, Km. 8.5 Carr. Yautepec-Jojutla. Col San Isidro. Apartado Postal 24. C. P. 62731, Yautepec, Morelos, México.+7353941896. *becarios Cofaa . jsolorza@ipn.mx

Palabras clave: solución filmogénica, plátano, almidón oxidado, viscoelasticidad.

RESÚMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar la viscoelasticidad de soluciones formadoras de películas (filmogénicas) consistentes en almidón nativo y oxidado de plátano y glicerol. Se aisló almidón de plátano, del cual parte se oxidó y ambos se usaron para preparar soluciones generadoras de películas al 4% (p/v) de almidón y 2% (p/v) de glicerol en solución acuosa. Se prepararon soluciones filmogénicas con 4% (p/v) de almidón nativo u almidón oxidado y glicerol al 2% (p/v) a las que se les efectuaron pruebas oscilatorias utilizando un reómetro TA Instruments, modelo AR1000, usando el módulo de control de deformación, con un sistema de cono y placa de 60 mm de diámetro y ángulo de 2°. Las soluciones filmogénicas fueron calentadas (rampa1) de 25 (etapa 1) a 90 (etapa 2) °C a una velocidad de calentamiento de 5 °C/min y enfriadas (rampa2) a 25 °C (etapa 3) a la misma velocidad. Se efectuó barrido de amplitud de deformación (0.1 a 15 %) y barrido de frecuencia (0.1 a 10 Hz), en las tres etapas. Así como un barrido de temperatura durante las 2 rampas (calentamiento y enfriamiento), manteniendo la deformación (1%) y frecuencia (1Hz) constantes. Los resultados mostraron que los geles obtenidos se comportaron como materiales viscoelásticos en todas las etapas, así como en ambas rampas de temperatura, siendo el módulo de almacenamiento (G') > el módulo de pérdida (G''), en el intervalo medido. Los valores de ambos módulos aumentaron durante el calentamiento por efecto de gelatinización del almidón hasta llegar a la 2ª etapa, presentando un segundo aumento al llegar a la 3ª etapa.

INTRODUCCIÓN.

El interés en el desarrollo de películas y recubrimientos a partir de biopolímeros renovables, ha sido notable en la última década. Actualmente, ya se han estado realizando diversas aplicaciones de biopelículas con resultados promisorios, principalmente en el área de empaques. Por otro lado, se prevé un buen número de aplicaciones adicionales a futuro.

Los plásticos desarrollados en los últimos 50 años se caracterizan por ser inertes y resistentes al ataque microbiano. Sin embargo, en los últimos 10 años se ha puesto mucho interés en el desarrollo de nuevos plásticos biodegradables, para lo cual se han introducido grupos carbonilo (CO), éster o amido, o bien agentes prooxidantes (metales de transición y lípidos) en la molécula polimérica para inducir su hidrólisis o su oxidación y así facilitar la biodegradación. Una alternativa ha sido la incorporación de polímeros naturales (biopolímeros) de fácil asimilación (ejemplo, almidón, gelatina) en el polímero sintético (difícilmente biodegradable como el polietileno y poliestireno), y de esta forma, estos plásticos en los que la resistencia al ataque microbiano se ha reducido por la incorporación de biomoléculas, pudieran presentar en diferentes grados de degradación, aplicaciones y costo (Mali et al, 2002)..

El almidón, el cual es un biopolímero producido por fuentes renovables, de bajo costo y asequible, se está investigando como posible ingrediente en la elaboración de biopelículas (Kroshta et al, 1994). La producción de películas flexibles basadas en este biopolímero usando el método de moldeado, hace necesaria su gelatinización para originar una matriz continua, y un plastificante para mejorar la flexibilidad del material. Las propiedades físicas y funcionales de las películas comestibles dependen en gran medida de parámetros como la

formulación, método de obtención, características del disolvente y aditivos (Peressini et al, 2003).

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales.

Se utilizaron frutos sanos de plátano macho (*Musa paradisiaca L.*) en estado fisiológico inmaduro, de color completamente verde, provenientes de la Central de Abastos de Cuautla Morelos, México.

Métodos.

Se extrajo el almidón con el método sugerido por Flores-Gorosquieta (2003), del cual un lote se sometió al proceso de oxidación, utilizando hipoclorito de sodio al 1% (v/v). A continuación, se prepararon lotes de soluciones filmogénicas con 4% (p/v) de almidón nativo o de almidón oxidado y glicerol al 2% (p/v) como plastificante, se les efectuaron pruebas oscilatorias utilizando un reómetro TA Instruments, modelo AR1000, usando el módulo de control de deformación, con un sistema de cono y placa de 60 mm de diámetro y ángulo de 2°. Las soluciones filmogénicas fueron calentadas (1ª rampa) de 25 (etapa 1) a 90 (etapa 2) °C a una velocidad de calentamiento de 5 °C/min y a continuación fueron enfriadas (2ª rampa) a 25 °C (etapa 3) a la misma velocidad. Se efectuaron barridos de amplitud de la deformación (0.1 a 15 % a 1 Hz) y barridos de frecuencia (0.1 a 10 Hz, a 10% de deformación), en las tres etapas. Se efectuó un barrido de temperatura durante las 2 rampas (calentamiento y enfriamiento), manteniendo la deformación (1%) y frecuencia (1Hz) constantes.

RESULTADOS.

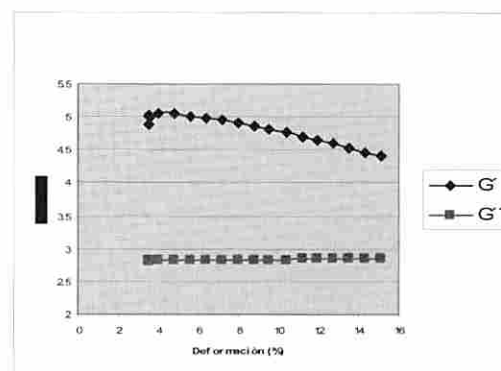


Figura 1. Barrido de amplitud a 25 °C de solución filmogénica de almidón nativo de plátano (4%) con glicerol (2%).

Durante el barrido de amplitud de la solución filmogénica de almidón nativo de plátano (4%) con glicerol (2%), las dos gráficas de los módulos de almacenamiento ó elástico (G') y de pérdida o viscoso (G'') muestran un comportamiento lineal con predominancia de G' sobre G'' . Los valores de tan delta correspondiente a esta etapa (0.563-0.645) son usuales en un gel viscoelástico débil (Ferry, 1980), en las gráficas no se manifiesta ninguna ruptura en su estructura durante la prueba. (Figura. 1). En la primera rampa de temperatura de 25 a 90 °C (Figura. 2) de la solución filmogénica antes mencionada, se mantiene la predominancia del carácter elástico en todo el

intervalo de temperatura, manifestándose un máximo en los módulos aproximadamente a 60 °C, los cual pudiera estar relacionado a la gelatinización del almidón contenido en la mezcla filmogénica.

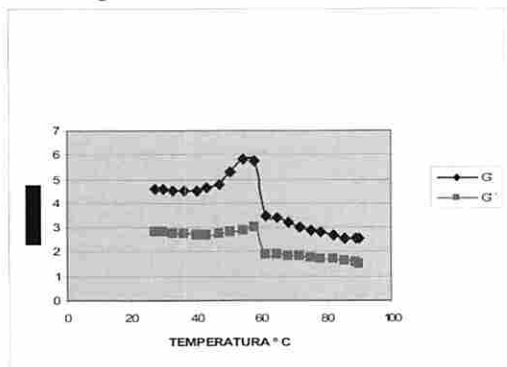


Figura 2. Rampa de temperatura 25-90 °C de solución filmogénica de almidón nativo de plátano (4%) con glicerol (2%).

El barrido de amplitud a 90 °C (Figura. 3) muestra alguna dependencia de los módulos con la deformación, pero sin apreciarse un cambio súbito en las gráficas. Se observa un incremento sustancial en el valor de ambos módulos (G', G'') con respecto a la primer etapa (25°C).

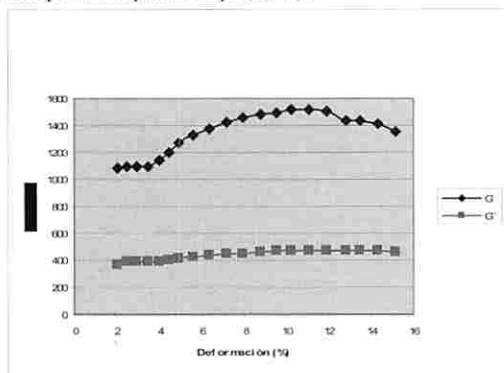


Figura 3. Barrido de amplitud 90 °C de solución filmogénica de almidón nativo de plátano (4%) con glicerol (2%).

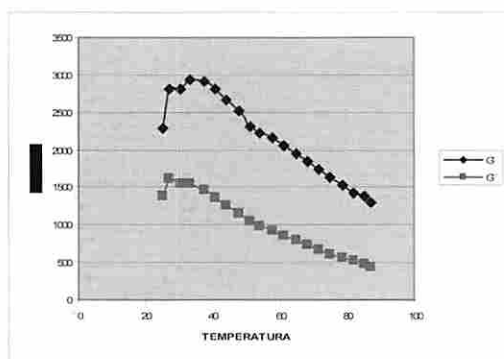


Figura 4. Rampa de temperatura 90-25 °C de solución filmogénica de almidón nativo de plátano (4%) con glicerol (2%).

Durante segunda rampa de temperatura (90 -25 °C) se observó cierta dependencia de los módulos con la temperatura, pero sin ningún punto de inflexión que indicara daño a la estructura de la muestra (Figura 4).

El tercer barrido de amplitud (25°C enfriamiento) manifestó un incremento en los valores de ambos módulos (G', G'') comparado a todas las etapas anteriores, conservando la relación $G' > G''$, sin afectarse la aparente linealidad de ambas gráficas (Figura. 5).

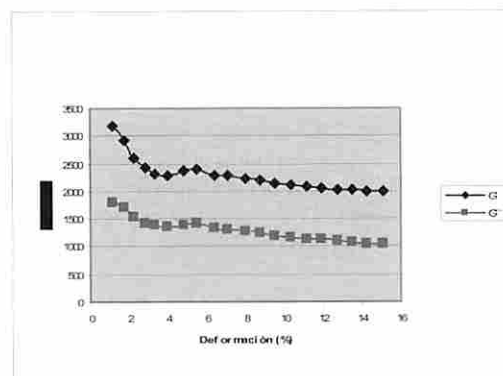


Figura 5. Barrido de amplitud a 25 °C de solución filmogénica de almidón nativo de plátano (4%) con glicerol (2%).

Las gráficas obtenidas para soluciones filmogénicas con almidón oxidado, fueron similares a las anteriormente presentadas. En base a las gráficas obtenidas de los barridos de amplitud para soluciones tanto con almidón nativo como con oxidado de plátano, se definió una región viscoelástica lineal en todo el intervalo de amplitud aplicado, decidiendo elegir el valor de 10 % de deformación para efectuar los barridos de frecuencia. En el barrido de frecuencia de la solución filmogénica de almidón nativo de plátano (4%) con glicerol (2%) a 25 °C se observa cierta dependencia de los módulos con la frecuencia, notándose que G' es mayor que G'' en todo el intervalo aplicado, y considerando el intervalo de tan delta obtenido (0.590 - 0.551), existe correspondencia con el de un gel viscoelástico débil (Figura 6).

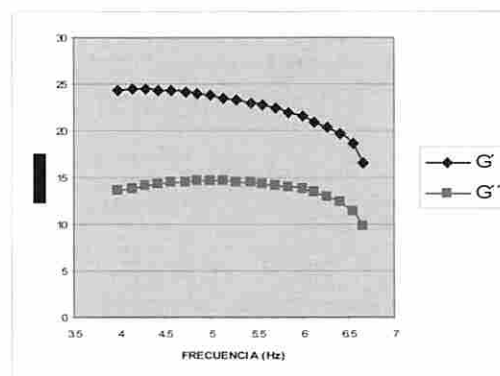


Figura 6. Barrido de frecuencia 25°C de solución filmogénica de almidón nativo de plátano (4%) con glicerol (2%).

Durante la primer rampa de temperatura (25-90°C) se observó que al incrementar ésta, los valores de ambos módulos (G', G'') permanecían con poca variación hasta 80 °C aproximadamente, donde iniciaba un incremento en sus valores, permaneciendo hasta el final del intervalo de calentamiento (no mostrado).

En el barrido de frecuencia a 90°C las gráficas fueron similares a la etapa inicial (25°C) con un aumento en los valores de ambos módulos, pero predominando G' sobre G''. Los valores de tan delta en esta etapa (0.502 - 0.476), indican que no hubo un cambio en el sistema reológico (gel débil) a pesar del aumento en los módulos (Figura 7).

La segunda rampa de temperatura (90-25°C) presentó una disminución gradual de los módulos (G', G'') con el incremento de la temperatura (no mostrado).

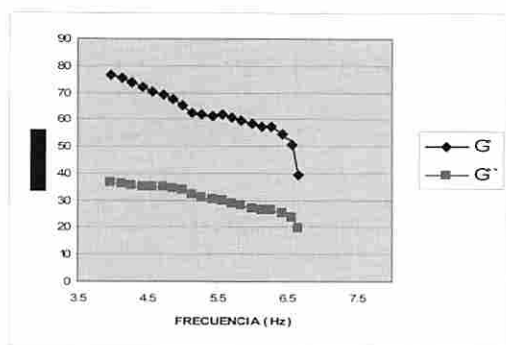


Figura 7. Barrido de frecuencia 90°C de solución filmogénica de almidón nativo de plátano (4%) con glicerol (2%).

Durante el barrido de frecuencia de la última etapa (enfriamiento a 25°C) (Figura. 8), se notó cierta dependencia de ambos módulos (G' , G'') con la frecuencia, pero manteniendo la relación G' mayor que G'' en todo el intervalo, sin la presencia de puntos de inflexión en las gráficas que indicaran la destrucción de la muestra. Los valores de ambos módulos disminuyeron con respecto a las etapas anteriores. El intervalo de los valores de $\tan \delta$ (0.594 – 0.369) indica un mayor decremento en los valores de G'' comparado a G' .

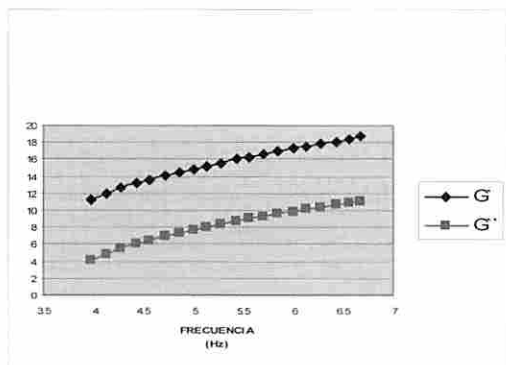


Figura 8. Barrido de frecuencia 25°C de solución filmogénica de almidón nativo de plátano (4%) con glicerol (2%).

Durante el barrido de frecuencia a 25 °C de la solución filmogénica de almidón oxidado de plátano (4%) con glicerol (2%) se observó un comportamiento similar al de muestras con almidón nativo, es decir, predominancia entre G' sobre G'' en todo el intervalo de frecuencia aplicado. No se observó ningún punto de inflexión que indicara destrucción de la muestra en el intervalo de frecuencia aplicado. Los valores de $\tan \delta$ (0.411 - 0.498) corresponden al de un gel viscoelástico débil.

En la rampa de temperatura de 25-90°C (almidón oxidado) la predominancia de G' sobre G'' se mantuvo, similar al de muestras con almidón nativo, aunque ambos módulos presentaron poca variación hasta los 75 °C, el incremento posterior de la temperatura resultó en un aumento en ambos módulos (G' , G''). Durante el barrido de frecuencia a 90 °C, las gráficas fueron similares a las de la primera etapa, aunque se observó un incremento en los valores de ambos módulos (G' , G'') respecto a la prueba a temperatura ambiente. En la segunda rampa de temperatura (90-25°C) se observó cierta disminución de los valores de los módulos (G' , G'') con la temperatura (no mostrado).

En la última fase (25°C enfriamiento) los valores de ambos módulos (G' , G'') disminuyeron al aumentar la frecuencia sin manifestarse ningún punto de inflexión que indique destrucción de muestra (no mostrado), similar al comportamiento de muestras de almidón nativo. Los valores de $\tan \delta$ (0.378 - 0.639) manifestaron poca variación y corresponden a los de un gel débil con G' mayor que G'' .

Al comparar los perfiles reológicos del barrido de frecuencia de muestras de solución filmogénica preparadas con almidón

nativo y oxidado de plátano a 25 °C (Figura 9), como ya se mencionó, se encontró que los perfiles son similares para ambos módulos (G' , G''), notándose sin embargo, que los valores de los módulos correspondientes al almidón nativo son mayores al oxidado, esta tendencia se mantiene durante la primera rampa de temperatura (25-90 °C) con el mencionado incremento en ambos módulos en el límite superior del intervalo.

Así mismo, se siguió el patrón ya mencionado (módulos de almidón nativo mayor que el oxidado) durante el barrido a 90 °C. Esta tendencia se mantuvo durante la segunda rampa de temperatura (90-25 °C), observándose así mismo un perfil similar entre las muestras. Sin embargo, es interesante notar que durante el barrido de frecuencia a 25 °C (etapa de enfriamiento), la mencionada tendencia se revirtió, es decir, los módulos (G' , G'') del almidón oxidado resultaron mayores que los del almidón nativo.

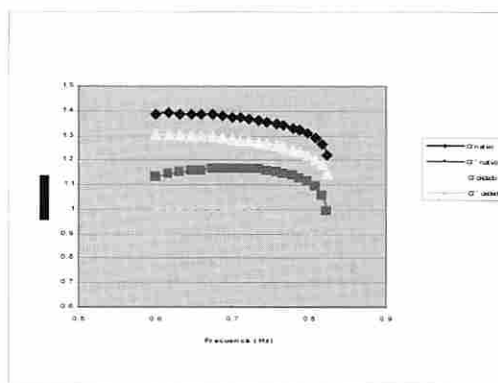


Figura 9. Barrido de frecuencia a 25 °C de la solución filmogénica de almidón de plátano (4%) con glicerol (2%).

CONCLUSIONES.

Los soluciones filmogénicas formadas con almidón tanto nativo como oxidado de plátano (4%) con glicerol (2%), presentaron comportamiento reológico de geles viscoelásticos débiles con G' mayor que G'' y valores de $\tan \delta$ menores que 1. El proceso de oxidación no afectó la forma de los perfiles reológicos y durante la primera y segunda etapa de calentamiento las muestras oxidadas presentaron valores de ambos módulos (G' , G'') menores que las correspondientes muestras con almidón nativo, observándose reversión de esta tendencia solo en los perfiles determinados en la tercera etapa (enfriamiento a 25 °C).

AGRADECIMIENTO.

Se agradece el apoyo financiero del Conacyt, proyecto No. 60565, y de la SIP-IPN proyecto No. 20070437.

BIBLIOGRAFÍA.

-Flores Gorosquieta, E. 2003. "Obtención de Jarabe de Glucosa a Partir de Almidón de Plátano Empleando un Reactor Enzimático a Nivel de Planta Piloto". Teisi de Maestría en Desarrollo de Productos Bióticos. Instituto Politécnico Nacional, Ceprobi-IPN, Yauatepec, Morelos, México. 92 p.
 -Ferry, J.D. 1980. "Viscoelastic Properties of Polymers", 1st Ed. New York. John Wiley and Sons. P:70-75.
 -Krochta, J.M., Baldwin, E.A. and Nisperos-Carriedo, M.O. 1994. "Edible Coatings and Films to Improve Food Quality". Lancaster, PA. Technomic Publishing Co. Inc. p:37-55.
 -Mali, S., Grossmann, M.V., García, M.A., Martino, N.M. and Zaritzky, E.N. 2002. Microstructural characterization of yam starch films. Carbohydrate Polymers.,379-386.
 -Pereessini, D., Bravib, B., Lapasin, R., Rizzotti, C. and Sensidoni, A. 2003. Starch-methylcellulose based edible films: rheological properties of film-forming dispersions. J. Food Eng., 59:25-32.

REOLOGÍA DE SOLUCIONES FILMOGÉNICAS ELABORADAS CON ALMIDÓN OXIDADO DE PLÁTANO Y GLICEROL.

Moya Ocegueda, Hilda Fabiola¹; Sánchez Rivera, Mirna^{2*}; López González, Carlos²; Bello Pérez, Luis Arturo^{2*} y Solorza-Feria, Javier^{2*}.

¹Universidad de Guadalajara, México.

²Centro de Desarrollo de Productos Bióticos del IPN, Km. 8.5 Carr. Yautepec-Jojutla. Col San Isidro. Apartado Postal 24. C. P. 62731, Yautepec, Morelos, México.+7353941896. *becarios Cofaa .
jsolorza@ipn.mx

Palabras clave: solución filmogénica, biopelículas, almidón, plastificante

RESÚMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar el perfil reológico de soluciones formadoras de películas (filmogénicas) consistentes en almidón oxidado de plátano y glicerol. Se determinaron las curvas de viscosidad de soluciones generadoras de películas de almidón nativo (control) y oxidado de plátano al 4% (p/v) y glicerol 2% (p/v) en solución acuosa, utilizando un Reómetro TA Instruments AR1000, con geometría de cono y placa de 6 cm de diámetro y ángulo de 2° a 25, 40, 50, 60, 70, 80 y 90°C. El intervalo de valores de velocidad de cizallamiento fue de 0-1000 (1/s). Se aplicó a los resultados el modelo de la ley de la potencia. Por otro lado, se investigó la presencia del fenómeno de tixotropía a las mismas temperaturas, aplicando el mismo intervalo de cizallamiento a las muestras, pero completando el ciclo aplicando el intervalo de 100-0 (1/s). Se determinó al área bajo la curva del bucle generado en la determinación. Se encontró que la viscosidad de todas las soluciones filmogénicas tanto del almidón nativo como del oxidado, disminuyeron al aumentar tanto la velocidad de cizallamiento (comportamiento reofluidizante), como la temperatura. Solo se observaron diferencias en los perfiles de viscosidad de las soluciones filmogénicas en los extremos del intervalo de temperatura estudiados (25 y 90°C), no así en los valores intermedios (40-80°C). Todas las muestras presentaron el fenómeno de tixotropía, con disminución de ésta al aumentar la temperatura, notándose un mayor grado en muestras con almidón oxidado.

INTRODUCCIÓN.

El problema de la contaminación ambiental generada por los envases sintéticos, ha favorecido las investigaciones sobre materiales biodegradables y, particularmente, sobre biopelículas, que son películas flexibles elaboradas con macromoléculas biológicas capaces de formar una matriz continua, que además de presentar potenciales propiedades físico-químicas adecuadas, tiene la capacidad de conferir propiedades de biodegradabilidad a los materiales que lo contienen. La utilización de biopolímeros de origen agrícola en la producción de envases biodegradables se puede hacer de varias maneras como son: (a) Uso de biopolímeros directamente en la producción de estas biopelículas, y (b) Utilización de mezclas de biopolímeros con polímeros sintéticos. Normalmente, en este caso, aun cuando el polímero sintético no sea biodegradable, el biopolímero provoca un aumento de la biofragmentación de los envases, y con ello su degradación más rápida en la naturaleza (sobral más al 2001). El proceso de producción de películas a partir de una solución formadora de película involucra una primera etapa de solubilización de la macromolécula en un disolvente (e.g. agua, etanol, solución de ácido acético, etc.) al cual se pueden incorporar diversos aditivos (plastificantes, agentes purificantes, etc.); en una segunda etapa, la solución formadora de película se esparce sobre el soporte, y se somete a secado. Por otro lado, la producción de películas comestibles y/o

biodegradables a base de biopolímeros, involucra la utilización de plastificantes, que aumentan la flexibilidad y el grado de manipulación de estas películas. Algunos ejemplos de plastificantes más utilizados actualmente son: glicerol, sorbitol, propileno glicol y polietileno glicol entre otros. Las propiedades físicas de estos materiales dependen en gran medida de la de sus componentes, como son el biopolímero y el plastificante (Peressini et al. 2003). El almidón es un biopolímero producido por fuentes renovables. La producción de películas flexibles basadas en este biopolímero, hace necesaria su gelatinización para originar la matriz continua, y un plastificante para mejorar la flexibilidad del material. La modificación del almidón, mejora algunas de sus propiedades fisicoquímicas, lo que pudiera ser interesante durante la elaboración de biopelículas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales.

Se utilizaron frutos sanos de plátano macho (*Musa paradisíaca* L) en estado fisiológico inmaduro, de color completamente verde, provenientes de la Central de Abastos de Cuautla Morelos, México.

Métodos.

Se extrajo el almidón con el método sugerido por Flores-Gorosquieta (2003), del cual un lote se sometió al proceso de oxidación, utilizando hipoclorito de sodio al 1% (v/v). A continuación se prepararon soluciones filmogénicas conteniendo 4% (p/v) de almidón nativo y oxidado y 1% (p/v) de plastificante (glicerol) en solución acuosa. Se determinaron curvas de viscosidad de estas soluciones generadoras de películas utilizando un Reómetro TA Instruments AR1000, con geometría de cono y placa de 6 cm de diámetro y ángulo de 2° a 25, 40, 50, 60, 70, 80 y 90°C. El intervalo de valores de velocidad de cizallamiento fue de 0-1000 (1/s). A los resultados se les aplicó el modelo matemático de la ley de la potencia ($\eta = k\dot{\gamma}^{n-1}$). Por otro lado, se investigó la presencia del fenómeno de tixotropía a las mismas temperaturas, aplicando el mismo intervalo de cizallamiento a las muestras, pero completando el ciclo, aplicando el intervalo de 100-0 (1/s). Se determinó al área bajo la curva del bucle generado en la determinación

RESULTADOS.

Con referencia al efecto de la temperatura en la viscosidad de las soluciones filmogénicas de almidón nativo y oxidado se puede observar que en general la viscosidad disminuye al aumentar la temperatura, conservando las gráficas su forma típica de un comportamiento reofluidizante. Este efecto mencionado fue independiente del tipo de almidón utilizado en la solución, es decir, que se observó la misma tendencia en soluciones con almidón nativo y almidón oxidado. (Figuras. 1 y 2).

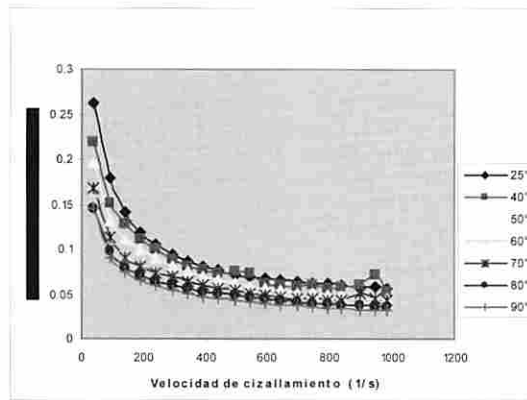


Figura 1. Efecto de la temperatura en la viscosidad de soluciones filmogénicas de almidón nativo de plátano (4%) y glicerol (2%).

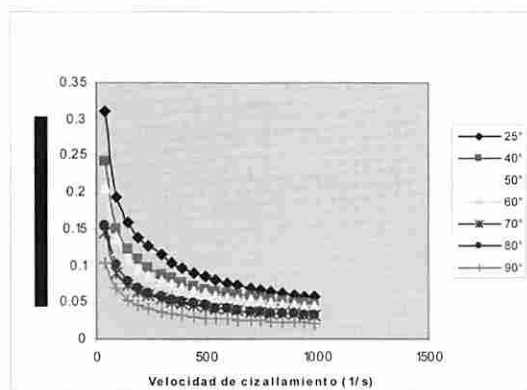


Figura 2. Efecto de la temperatura en la viscosidad de soluciones filmogénicas de almidón oxidado de plátano (4%) y glicerol (2%).

Al comparar las curvas de viscosidad de las soluciones filmogénicas preparadas con los almidones, se puede observar que a 25°C el almidón oxidado presentó valores mayores de viscosidad durante la mayor parte del intervalo de cizallamiento aplicado, mientras que a 90°C esta tendencia se revirtió, es decir, que el almidón nativo presentó mayor viscosidad en todo el intervalo de cizallamiento (Figuras. 3 y 4).

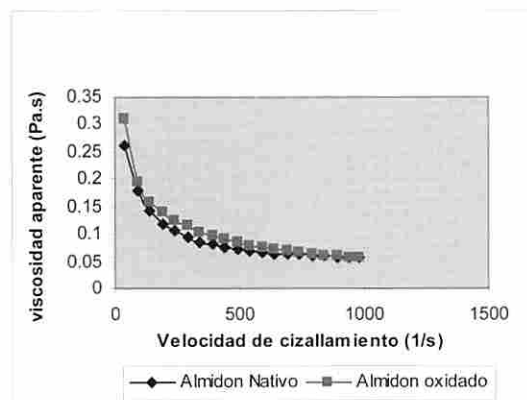


Figura 3. Comparación de los perfiles de viscosidad de soluciones filmogénicas con almidón nativo y almidón oxidado (4%) y glicerol (2%) a 25°C.

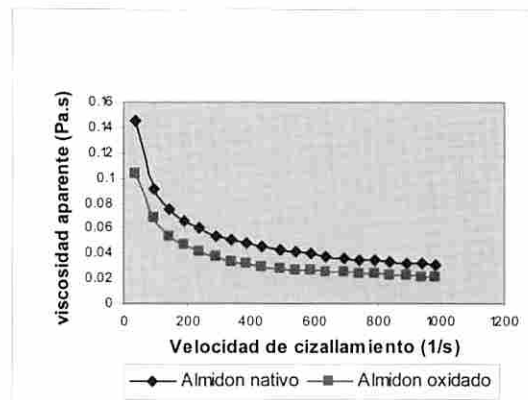


Figura 4. Comparación de los perfiles de viscosidad de soluciones filmogénicas con almidón nativo y almidón oxidado (4%) y glicerol (2%) a 90°C.

En las soluciones filmogénicas de almidón nativo de plátano (Tabla 1), al aumentar la temperatura aumenta el valor del índice de comportamiento de flujo (n), es decir, a medida que la temperatura aumenta, disminuye el grado de reofluidización y aumenta como consecuencia la tendencia al comportamiento newtoniano de éstas muestras (Mezger, 2002). El índice de consistencia (k), presentó en general la tendencia a disminuir al aumentar la temperatura. En el caso de las muestras de soluciones filmogénicas de almidón oxidado, se tiene que al aumentar la temperatura el valor de n disminuye, en consecuencia, por aumento de la temperatura, las muestras presentan comportamiento más reofluidizante (menos newtoniano), lo cual es una tendencia opuesta a lo observado en el almidón nativo. k mostró en general la tendencia a disminuir al aumentar la temperatura. Todas las muestras presentan un ajuste adecuado al modelo de la ley de la potencia ($r > 0.95$).

Tabla 1. Comparación de los valores de n y k a diferentes temperaturas de las soluciones filmogénicas de almidón nativo y oxidado de plátano (4%) con glicerol (2%).

Tipo de Almidón	T(°C)	n	k	r^2	r
Nativo	25	0.350	6.068	0.987	0.993
	40	0.352	6.865	0.990	0.995
	50	0.355	5.670	0.995	0.997
	60	0.369	5.553	0.995	0.997
	70	0.393	4.570	0.994	0.997
	80	0.404	3.995	0.997	0.998
	90	0.326	9.466	0.997	0.998
Oxidado	25	0.517	2.365	0.998	0.999
	40	0.494	2.345	0.997	0.998
	50	0.484	2.222	0.995	0.997
	60	0.485	2.041	0.998	0.998
	70	0.448	2.623	0.994	0.997
	80	0.476	1.939	0.997	0.998
	90	0.439	2.344	0.999	0.999

Para el caso de las soluciones filmogénicas de almidón nativo de plátano, en general fue disminuyendo su grado de tixotropía con el aumento de la temperatura. Este comportamiento es congruente como era de esperarse con el comportamiento de las curvas de flujo de estas muestras. Para las soluciones filmogénicas de almidón oxidado, el grado de tixotropía disminuyó con el aumento de temperatura, coincidiendo con el comportamiento de las curvas de flujo (valores n y k) de estas muestras (Tabla 2).

<i>Almidón Nativo</i>		
T (°C)	Tixotropía (Pa/s)	Tixotropía normalizada (x 10 ⁻⁴ 1/s)
25	2834	2.685
40	2421	2.732
50	2284	3.087
60	2696	1.171
70	2348	6.851
80	1409	5.399
90	798.2	1.882
<i>Almidón Oxidado</i>		
T (°C)	Tixotropía (Pa/s)	Tixotropía normalizada (x 10 ⁻³ 1/s)
25	8079	1.085
40	6626	1.016
50	5562	9.379
60	3349	1.222
70	3456	1.082
80	3257	8.165
90	3409	9.431

Tabla 2. Comportamiento tixotrópico de las soluciones filmogénicas de almidón nativo y almidón oxidado de plátano (4%) con glicerol (2%).

CONCLUSIONES.

Las soluciones filmogénicas compuestas por almidón nativo y almidón oxidado (4%) con glicerol (2%) presentaron comportamiento reofluidizante. La viscosidad disminuyó con el aumento de la temperatura. Se observó un ajuste adecuado al modelo de la ley de la potencia. El proceso de oxidación del almidón afectó a los valores de n y k. Todas las muestras presentaron comportamiento tixotrópico con disminución del grado de tixotropía al aumentar la temperatura.

AGRADECIMIENTO.

Se agradece el apoyo financiero del Conacyt, proyecto No. 60565, y de la SIP-IPN proyecto No. 20070437.

BIBLIOGRAFÍA.

-Flores Gorosquieta, E. 2003. "Obtención de Jarabe de Glucosa a Partir de Almidón de Plátano Empleando un Reactor Enzimático a Nivel de Planta Piloto". Teisi de Maestría en Desarrollo de Productos Bióticos. Instituto Politécnico Nacional. Cprobi-IPN, Yautepec, Morelos, México. 92 p.

-Mezger, G.T. 2002. "The Rheology Handbook", 1st edition, Hanover Germany. Vincents Verlag. P: 21-45.

-.Pereessini, D.,Bravib, B., Lapasin, R., Rizzotti, C. and Sensidoni, A. 2003. Starch-methylcellulose based edible films:rheological properties of film-forming dispersions. J. Food Eng., 59:25-32.

- Sobral, Paulo Jose Do Amaral; Menegalli, F., Hubinger, M. D. and Roques, M. A. 2001. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. Food Hydrocolloids,15:423-432.

FORMACIÓN DE UNA PELÍCULA COMESTIBLE A BASE DE ALGINATO DE SODIO Y ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO Y CARACTERIZACIÓN DE LAS PROPIEDADES MECÁNICAS Y DE BARRERA AL VAPOR DE AGUA

Torres-Bojórquez A.E., Arias-Cruzado E.Y., Herrera-Pérez S. y Pérez-Pérez C.;
Instituto Tecnológico de Celaya, Dpto. Ingeniería Bioquímica. Av. Tecnológico y A. García Cubas S/N
38040. Celaya, Gto. Tel. 01 (461) 6117575 Ext. 329, 209. Fax. 01(461) 6117575 Ext. 402

Palabras Clave: propiedades mecánicas, aceite esencial de orégano, alginato de sodio.

RESUMEN.

Del desarrollo de nuevas tecnologías para el procesamiento de alimentos surgen una gran cantidad de materiales para la elaboración de empaques, los cuales han sido desarrollados para interactuar con los alimentos. Existen compuestos naturales provenientes de aceites esenciales de plantas o especias ricas en compuestos biológicamente activos como flavonoides y ácidos fenólicos que poseen un amplio rango de propiedades antimicrobianas para el control del crecimiento de bacterias. La incorporación de éstos compuestos antimicrobianos naturales dentro de cubiertas comestibles es un nuevo método para el control del crecimiento de patógenos en las superficies de los alimentos. El objetivo de este trabajo fue producir una película comestible y biodegradable así como evaluar las propiedades mecánicas y de barrera al vapor de agua. La película con mejores propiedades mecánicas fue la constituida por 2% de alginato de sodio, 1% de glicerol, 2% de aceite esencial de orégano y 0.02% de tween 80, requiriendo una fuerza de 6.80 N en esfuerzo a la punción y 6.53 N en esfuerzo a la tensión, mientras que la adición de sales de calcio disminuyó la permeabilidad al vapor de agua a 3.5×10^{-12} mol m/m² sPa.

INTRODUCCIÓN.

Las películas comestibles pueden formar parte de los alimentos y actuar como barreras sobre frutas, vegetales y productos cárnicos, entre otros alimentos. El uso de recubrimientos comestibles mejora la apariencia del producto y su conservación, lo protegen contra la acción microbiana, oxígeno, humedad de medio que lo rodea limitando la pérdida de nutrientes. El crecimiento microbiano sobre las superficies de alimentos cárnicos es su mayor causa de deterioro, en particular la contaminación bacteriana en productos listos para comer. Debido a esto, controlar el contenido de microorganismos patógenos en los alimentos continúa siendo un importante objetivo para la industria alimenticia. Los empaques comestibles y biodegradables pueden servir como "acarreadores" de un amplio grupo de aditivos, incluyendo antimicrobianos y antioxidantes provenientes de fuentes naturales haciéndolas una herramienta cada vez más utilizada. Los agentes antimicrobianos usados en aplicaciones alimenticias incluyen ácidos orgánicos, bacteriocinas y especias ricas en compuestos antimicrobianos como el aceite esencial de orégano. Los cambios en las propiedades mecánicas de estas películas son una manifestación de los cambios estructurales que ocurren en un material cuando está plastificado. La evaluación de las propiedades mecánicas en películas flexibles es importante debido a que la aplicación de una película en la superficie de un alimento requiere de cierto grado de integridad estructural.

MATERIALES Y MÉTODOS.

Preparación de la película.

Las películas a base de alginato de sodio (Sigma-Aldrich, viscosidad: 20,000 - 40,000cps) se producen de acuerdo a la técnica de Pavlath y col., 1999 con algunas modificaciones; se preparó una suspensión filmogénica formada por 2 % (p/v) de alginato de sodio disuelto en 100 mL de agua destilada con agitación magnética a temperatura de 70° C durante 30 minutos, para después agregar 1% (p/v) de glicerol como plastificante (Fermont 06441PA), manteniendo un pH entre 7 y 7.5 en la

solución, se disminuyó la temperatura hasta 40° C de manera natural y se agregó el 2 % (v/v) de aceite esencial de orégano como agente activo agitando en el Ultra-Turrax IKA-T25 a 6500 rpm, y una cantidad de 0.02 % (v/v) de Tween 80 (HYCEL de Mex., CAS9005-656) como agente emulsificante y tensoactivo para ayudar a incorporar completamente el aceite esencial de orégano en la matriz de alginato de sodio, al final se agregó una solución de 0.2 % y 0.5 % de CaCO₃ y gluconato de calcio respectivamente en las películas que indicó el diseño experimental factorial fraccionado 2³; agitando a 7000 rpm durante 5 min más obtenemos una perfecta incorporación de todos los componentes de la película.

La suspensión filmogénica completamente homogénea se vertió en cajas petri de plástico y se secaron a temperatura ambiente durante 24 a 36 hrs a una humedad relativa de 58 % y se almacenaron a temperatura ambiente en papel aluminio. Se empleó un diseño experimental factorial fraccionado 2³, obteniendo 8 ensayos y como control se agregó un noveno ensayo formado por 2% (p/v) de alginato de sodio sin glicerol. Las películas fueron cortadas para evaluar las propiedades mecánicas y de barrera.

Medición del espesor y propiedades físicas

El espesor de las películas fue medido usando un micrómetro (Sonda de espesor, Foil Dial F 1101/30). Las muestras de película fueron recortadas de acuerdo a las dimensiones señaladas por los métodos estándar para la medición de las propiedades funcionales y se tomaron aleatoriamente cinco mediciones de espesor. El valor promedio fue tomado para calcular las propiedades mecánicas y de barrera al vapor de agua.

La densidad de las películas fue calculada al dividir el peso de película entre el volumen del material, donde el volumen es calculado al multiplicar el área de la película por el espesor.

Permeabilidad al vapor de agua

Las películas empleadas para la determinación de la permeabilidad al vapor de agua fueron primeramente acondicionadas a 58 % de humedad relativa a temperatura ambiente (25 ± 0.5° C) por 24 horas. Una modificación del método gravimétrico ASTM E 96- 80 (ASTM, 1989) fue empleado para determinar la cinética de transporte de vapor de agua de las películas, al colocar la película en una celda de permeabilidad donde se ejerce un diferencial de presión.

Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas de las películas fueron determinadas con un texturómetro TA-XT2i (Microstable System, Godalming, England). Previo a las determinaciones, las muestras se acondicionaron a temperatura de (25 ± 0.5° C) y humedad relativa de (58 ± 3 %) por al menos dos días. Las determinaciones se efectuaron inmediatamente de removerlas de las condiciones de acondicionamiento para minimizar la variabilidad de humedad en este tipo de películas hidrofílicas.

El método ASTM D882- 83 (ASTM, 1983) fue empleado para medir el esfuerzo máximo a la tensión y el porcentaje de elongación. La película se sujetó utilizando pinzas neumáticas y se aplicó una velocidad uniaxial de desplazamiento del cabezal

de 5 mm/s con una fuerza de 15 N para deformarlas. El valor del esfuerzo máximo a la elongación se determinó como la fuerza máxima (N) dividida por la sección transversal de área (mm²).

El esfuerzo máximo a la punción fue realizado aplicando una fuerza perpendicular a la película mediante una sonda de 2 mm de diámetro a una velocidad de 5 mm/s hasta la ruptura. Para evitar variaciones debidas al espesor, se divide el esfuerzo entre el espesor. Tres réplicas de cada película fueron elaboradas (Gontard y col., 1992; Pérez 1995).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Esfuerzo máximo a la punción.

En la Figura (1) se observa que las películas requirieron de glicerol como agente plastificante ya que se incrementó la resistencia y flexibilidad de la película con sólo alginato de sodio, la película compuesta por alginato de sodio, glicerol, aceite esencial de orégano y tween 80 presentó un mayor esfuerzo a la punción, por el contrario la adición de sales de CaCO₃ y gluconato de calcio hizo a las películas mas frágiles y quebradizas, disminuyendo las propiedades de resistencia a la punción en las películas conteniendo alginato y el agente plastificante, inclusive la acción plastificante del glicerol y del aceite esencial de orégano se vio disminuida al adicionar sales de calcio, esto debido a la interacción de los grupos carboxilo libres del alginato con los iones de calcio.

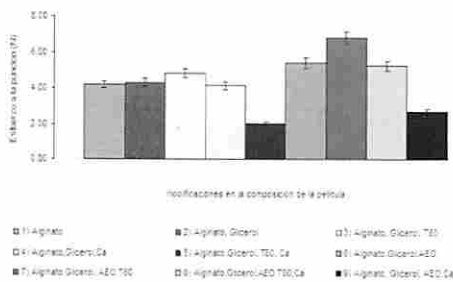


Figura 1. Esfuerzo a la punción (N) de las películas a base de alginato de sodio

Esfuerzo Máximo a la Tensión.

Los resultados de esfuerzo a la tensión que se presentan en la Figura (2) fueron muy similares a las pruebas de esfuerzo a la punción, donde se puede constatar que las películas con mejores propiedades de elongación fueron las que están constituidas por alginato, glicerol y AEO, seguida por la que contiene T80; el glicerol es necesario ya que incrementa las propiedades elásticas que presenta el alginato por sí solo, y de igual modo al esfuerzo máximo a la punción, la adición de sales de CaCO₃ y gluconato de calcio no mejoró la textura ni las propiedades elásticas, sino que las volvió más rígidas y quebradizas, disminuyendo sus propiedades de elongación y fueron más difíciles de manejar.

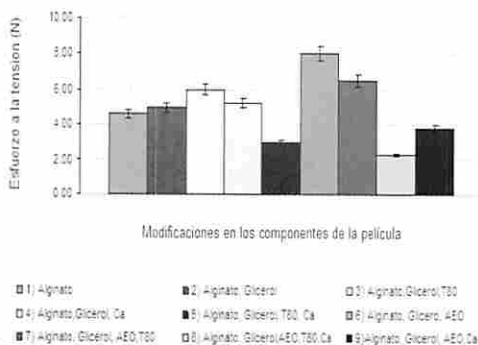


Figura 2. Esfuerzo máximo a la tensión (N) de las películas a base de alginato de sodio

Permeabilidad al vapor de Agua.

Los resultados de permeabilidad al vapor de agua, mostrados en la Figura (3) muestran que la adición de aceite esencial de orégano y del plastificante ayudó a reducir la permeabilidad al vapor del agua de la película, debido a la hidrofobicidad del AEO, la adición de CaCO₃ no presentó una diferencia significativa en la permeabilidad de las películas que contienen aceite esencial de orégano, lo que nos indica que iones de calcio interactúan con el alginato de sodio mejorando su permeabilidad pero dificultando su manejo y propiedades mecánicas.

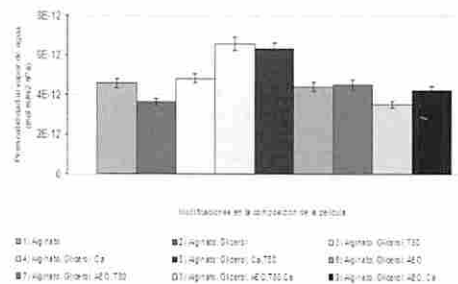


Figura 3. Permeabilidad al vapor de agua (molm⁻²sPa) de las películas a base de alginato de sodio

CONCLUSIONES.

Las propiedades mecánicas de esfuerzo máximo a la elongación y esfuerzo máximo a la punción, así como las propiedades de barrera al vapor de agua variaron al agregar glicerol ya que se incrementan los espacios en la red polimérica aumentando su permeabilidad; a su vez es esencial para la resistencia y elongación de la película, mientras que al adicionar sales de calcio en conjunto con aceite esencial de orégano incrementaron la fragilidad en la película reduciendo la permeabilidad al vapor de agua. Las propiedades de barrera al vapor de agua de la película se vieron mejoradas con la adición del aceite esencial de orégano como compuesto hidrofóbico y el emulsificante tween 80.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Guanajuato por la beca otorgada y al M.C. Salvador Lecona Uribe de la Universidad Politécnica de Guanajuato, Campus Cortazar por el donativo de aceite esencial de orégano.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

ASTM 1983, Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. D-882-83, *Annual Book of ASTM Standards*. American Society of Testing and Material, Philadelphia, PA.

ASTM 1989, *Annual Book of ASTM Standards*, American Society for Testing and Material, Philadelphia, PA, 1989.

Gontard, N., Guilbert, S., and Cuq, J.L. 1992, Edible wheat gluten films and coatings: influence of the main process variable on films properties using response surface methodology. *J. Food Sci.*, 57, 190.

Pavlath A.E., Wong D., Gregorski K., Hudson J. 1999. Calcium Alginate Films: Thermal Properties and Permeability to Sorbate and Ascorbate. *J. Food Sci.* 61(2): 337-341.

Pérez-Pérez, MC. 1995. Obtención, caracterización y evaluación de películas biodegradables a base de proteínas de gluten de trigo y etilcelulosa. Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Autónoma de Querétaro.

ESTUDO DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS DE FILMES A BASE DE BLENIDAS DE GELATINA E POLI(VINIL ÁLCOOL) UTILIZANDO A METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA

Maria, Thais M.C.; Carvalho, Rosemary A.; Kamimura, Eliana S.; Sobral, Paulo J.A.; Habitante, Ana Mônica B.Q.

Departamento de Engenharia de Alimentos – FZEA - UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Av. Duque de Caxias Norte, 225 - CEP 13635-900 - Pirassununga/SP. E-mail: pjsobral@usp.br

Palavras chaves: filmes biodegradáveis, propriedades físicas, otimização, delineamento experimental.

RESUMO

O objetivo deste projeto foi a elaboração de filmes biodegradáveis à base de blendas de gelatina e poli(vinil álcool) e a caracterização de suas principais propriedades físicas e funcionais. Estudou-se o efeito do grau de hidrólise (GH), concentração de PVA (C_{PVA}), tipo de plastificante (T_P) e concentração de plastificante (C_P), nas propriedades funcionais de filmes à base de Gelatina e PVA utilizando-se metodologia de superfície de resposta, para se avaliar simultaneamente o efeito da variação desses parâmetros nas propriedades funcionais dos filmes. Esse estudo foi desenvolvido utilizando-se um planejamento fatorial 2^4 . Os filmes foram produzidos a partir da mistura de soluções de gelatina e de PVA. As soluções formadoras de filmes foram preparadas sempre com 2 g de macromolécula (gelatina + PVA)/100g de solução filmogênica. As variáveis dependentes estudadas foram as propriedades mecânicas, determinadas com testes de tração e de perfuração. Segundo os resultados obtidos, verificou-se que a variação de T_P tem um efeito muito mais marcante na força na ruptura e que T_P e C_{PVA} afetam significativamente a deformação na ruptura. Por outro lado, C_{PVA} , T_P e C_P afetam significativamente a elongação na ruptura.

INTRODUÇÃO

A questão do impacto ambiental das embalagens sintéticas tem favorecido, de modo geral, as pesquisas sobre materiais biodegradáveis e, particularmente, sobre biofilmes. Dentre essas macromoléculas, a gelatina está sendo estudada por diversos grupos de pesquisa, provavelmente devido às suas propriedades funcionais e por ser produzida em larga escala a preços competitivos.

De um modo geral, os filmes à base de gelatina apresentam boa resistência mecânica, porém reduzida barreira ao vapor de água (Carvalho e Grosso, 2006). Por outro lado, devido às características hidrofílicas da gelatina, esses filmes apresentam elevada susceptibilidade às condições ambientais o que dificulta sua aplicação como embalagem. Uma alternativa para melhorar as características mecânicas desses materiais pode ser a mistura desses biopolímeros com polímeros sintéticos biodegradáveis, como o poli(vinil álcool) (PVA), que é hidrofílico e biodegradável (Matsumura et al., 1999). Alguns filmes à base de blendas de PVA e gelatina (Chiellini et al., 2001a,b; Bergamo et al., 2006) já foram desenvolvidos, entretanto, mais dados são necessários para o desenvolvimento de um produto ideal para a comercialização.

O poli(vinil álcool) é produzido a partir do vinil acetato. Inicialmente o monômero vinil acetato é polimerizado em poli(vinil acetato), e convertido em poli(vinil álcool) através de hidrólise (Finch, 1983). Portanto as características do PVA dependem grau de hidrólise do poli(vinil álcool).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi a elaboração de filmes biodegradáveis à base de blendas de gelatina e poli(vinil álcool) e o estudo do efeito das variáveis grau de hidrólise (GH), concentração de PVA (C_{PVA}), tipo de plastificante (T_P) e concentração de plastificante (C_P), nas propriedades funcionais de filmes à base de Gelatina/PVA utilizando-se a metodologia de superfície de resposta. Esse estudo foi desenvolvido utilizando-se um planejamento fatorial 2^4 .

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Foi utilizada gelatina do Tipo A, comercial, extraída de pele suína, doada pela indústria GELITA do Brasil Ltda (São Paulo, Brasil). Os dois tipos de poli(vinil álcool) (PVA), Celvol® 418 (GH = 91,8%) e Celvol® 350 (GH = 98,6%), foram doados pela indústria Celanese (Dallas/USA). Os plastificantes, glicerol (Synth) e o sorbitol (Nuclear), e o brometo de sódio (Nuclear), utilizado no preparo de solução salina saturada, foram adquiridos no mercado local.

Produção dos filmes e delineamento experimental

Os filmes foram produzidos a partir da mistura de soluções de gelatina (solução A) e de PVA (solução B), sendo a concentração de macromolécula (gelatina + PVA) fixada em 2g de macromolécula/100g de solução filmogênica. A espessura dos filmes foi mantida constante em $0,080 \pm 0,008$ mm, controlando-se a relação massa de solução filmogênica/área de suporte.

Anteriormente às caracterizações, os filmes foram acondicionados em dessecadores contendo solução salina saturada de NaBr (58% de umidade relativa) a 25°C, por sete dias. Todas as caracterizações foram realizadas em sala climatizada ($T = 22^\circ\text{C}$ e umidade relativa entre 55 e 65%).

Um planejamento fatorial completo 2^4 foi utilizado (Bruns et al., 2003), visando-se avaliar o efeito das variáveis GH, C_{PVA} , T_P e C_P , nas propriedades mecânicas de filmes à base de Gelatina/PVA. Os valores reais e codificados (-1 e +1) de planejamento utilizado podem ser observados na Tabela 1.

O "teste F" foi utilizado para verificar a significância estatística dos coeficientes de regressão. As análises estatísticas (análise da variância, análise da regressão e otimização) foram realizadas utilizando-se o programa computacional Statistica program (Version 7.0, Minneapolis, MN).

Testes mecânicos

As propriedades mecânicas, avaliadas por testes de tração (tensão na ruptura, elongação na ruptura e módulo elástico) e de perfuração (força na perfuração e deformação na perfuração), foram determinadas utilizando-se um texturômetro TA.XT2i (Stable Micro Systems, TA Instruments). Esses testes foram realizados em duplicata para cada formulação (totalizando em média 10 medições). Os testes de tração e de perfuração foram conduzidos conforme metodologias descritas em Thomazine et al. (2005) e Sobral et al. (2001), respectivamente.

RESULTADOS

Os resultados do planejamento experimental 2^4 , com sua duplicata genuína, dos testes mecânicos de perfuração e de tração podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1 – Resultados do planejamento experimental 2⁴, com sua duplicata genuína, para a força na perfuração (F), deformação na perfuração (D) tensão na ruptura (TR), alongação na ruptura (E) e módulo elástico (ME).

D	En	GH	T _p	C _p	C _{PVA}	F (N)	D (%)	TR (MPa)	E (%)	ME (MPa)
1	1	91,8(-1)	S(-1)	25(-1)	20(-1)	23,2±0,6	2,6±0,3	9,3±0,5	20,1±2,2	3,6±0,7
2	2	98,6(+1)	S(-1)	25(-1)	20(-1)	24,0±2,2	2,5±0,1	9,4±1,3	17,1±2,2	3,2±0,8
3	3	91,8(-1)	G(+1)	25(-1)	20(-1)	15,4±1,5	3,3±0,3	17,0±3,6	34,9±0,8	5,7±0,9
4	4	98,6(+1)	G(+1)	25(-1)	20(-1)	14,7±0,3	3,3±0,1	22,1±2,9	42,3±10,8	4,9±0,7
5	5	91,8(-1)	S(-1)	45(+1)	20(-1)	17,4±0,3	3,3±0,1	8,9±0,7	74,3±6,3	0,4±0,3
6	6	98,6(+1)	S(-1)	45(+1)	20(-1)	16,8±0,7	5,0±0,5	8,2±0,9	50,0±6,4	1,6±0,6
7	7	91,8(-1)	G(+1)	45(+1)	20(-1)	17,3±0,1	8,8±0,1	17,2±2,4	49,6±4,9	2,6±0,2
8	8	98,6(+1)	G(+1)	45(+1)	20(-1)	10,3±0,3	8,6±0,4	15,4±0,2	50,1±0,5	1,4±0,1
9	9	91,8(-1)	S(-1)	25(-1)	50(+1)	21,6±2,1	5,4±0,4	29,2±0,7	67,3±3,0	4,2±0,1
10	10	98,6(+1)	S(-1)	25(-1)	50(+1)	25,5±1,6	6,6±0,5	13,7±1,3	76,3±7,4	1,3±0,1
11	11	91,8(-1)	G(+1)	25(-1)	50(+1)	16,6±1,6	9,4±0,5	18,2±1,0	99,8±2,9	1,5±0,1
12	12	98,6(+1)	G(+1)	25(-1)	50(+1)	19,2±1,3	9,0±0,1	20,0±0,4	110,1±6,7	1,8±0,2
13	13	91,8(-1)	S(-1)	45(+1)	50(+1)	15,8±1,5	12,3±0,9	21,2±0,3	120,8±13,0	1,6±0,2
14	14	98,6(+1)	S(-1)	45(+1)	50(+1)	17,8±0,6	10,9±1,5	23,3±2,4	117,9±14,8	1,6±0,4
15	15	91,8(-1)	G(+1)	45(+1)	50(+1)	9,5±0,7	16,6±1,0	8,1±0,1	162,9±0,3	0,3±0,0
16	16	98,6(+1)	G(+1)	45(+1)	50(+1)	12,3±1,4	15,7±0,7	12,1±2,3	177,2±14,3	0,4±0,1
2	1	91,8(-1)	S(-1)	25(-1)	20(-1)	25,9±0,6	2,7±0,1	7,7±0,7	9,0±0,1	2,7±1,1
2	2	98,6(+1)	S(-1)	25(-1)	20(-1)	25,1±0,6	2,2±0,2	9,2±1,9	15,3±5,1	2,1±1,2
3	3	91,8(-1)	G(+1)	25(-1)	20(-1)	15,7±2,3	3,6±0,8	16,4±1,5	31,8±1,5	5,5±1,2
4	4	98,6(+1)	G(+1)	25(-1)	20(-1)	17,3±0,6	3,2±0,3	17,5±3,9	42,3±6,1	3,7±0,3
5	5	91,8(-1)	S(-1)	45(+1)	20(-1)	17,3±0,6	3,2±0,3	9,8±2,4	65,8±10,8	0,8±0,2
6	6	98,6(+1)	S(-1)	45(+1)	20(-1)	23,7±1,6	2,9±0,1	9,9±2,8	32,9±2,4	3,9±0,5
7	7	91,8(-1)	G(+1)	45(+1)	20(-1)	13,8±0,9	4,6±0,8	25,5±4,5	52,6±3,5	3,2±0,1
8	8	98,6(+1)	G(+1)	45(+1)	20(-1)	9,5±0,5	8,5±0,7	11,1±0,9	64,6±6,2	1,3±0,3
9	9	91,8(-1)	S(-1)	25(-1)	50(+1)	22,9±1,6	7,0±0,2	49,6±1,9	47,8±3,6	9,0±0,1
10	10	98,6(+1)	S(-1)	25(-1)	50(+1)	25,0±2,0	6,0±0,5	17,9±2,8	98,5±11,3	1,2±0,3
11	11	91,8(-1)	G(+1)	25(-1)	50(+1)	14,6±1,2	12,8±1,1	20,4±1,1	98,9±1,4	1,6±0,1
12	12	98,6(+1)	G(+1)	25(-1)	50(+1)	19,2±0,9	9,4±0,3	21,1±1,1	94,4±5,1	2,2±0,0
13	13	91,8(-1)	S(-1)	45(+1)	50(+1)	15,1±1,9	13,6±4,1	22,8±0,9	130,1±6,8	1,3±0,2
14	14	98,6(+1)	S(-1)	45(+1)	50(+1)	17,3±2,2	10,6±0,4	34,8±1,5	96,4±6,8	3,6±0,4
15	15	91,8(-1)	G(+1)	45(+1)	50(+1)	9,2±0,6	18,0±0,4	11,2±0,4	170,0±8,3	0,4±0,0
16	16	98,6(+1)	G(+1)	45(+1)	50(+1)	12,6±2,5	15,8±1,7	14,2±0,7	175,9±7,5	0,5±0,0

D_p = duplicata genuína; En = ensaios; GH = grau de hidrólise do PVA (%); T_p = Tipo de plastificante; G = glicerol; S = sorbitol; C_p = concentração de plastificante(g/100g de macromoléculas); C_{PVA} = concentração de PVA (g/100g de gelatina); (-1), (+1) = valores codificados das variáveis utilizadas na matriz de planejamento experimental.

Testes de perfuração

Para a resposta força na ruptura (F), segundo os resultados das análises estatísticas dos efeitos (mudança da variável do nível -1 para o +1) principais e de interação, verificou-se que apenas as variáveis T_p, C_p e a interação entre as variáveis C_p e C_{PVA} afetaram significativamente, na faixa estudada, a força na perfuração. Em relação à análise estatística dos coeficientes de regressão do modelo linear para resposta F, verificou-se que os coeficientes das variáveis T_p, C_p e as interações GH x C_{PVA} e C_p x C_{PVA}, foram significativos. Assim o modelo linear para FP pôde ser expresso pela Equação 1.

$$F = 17,67 - 3,47T_p - 2,70C_p + 1,00 GH C_{PVA} - 0,74 C_p C_{PVA} \quad (1)$$

A análise da variância para a resposta F, permitiu verificar que o valor de F_{calc} (67,10) foi muito superior ao valor de F tabelado (F_{4,27} = 2,73), com um coeficiente de correlação de 0,9086, o que indicou que o modelo foi altamente significativo e preditivo, podendo-se assim, gerar as respectivas superfície de resposta.

Da análise da superfície de resposta gerada, pode-se observar (Figura 1), que o tipo de plastificante teve um efeito mais marcante sobre F, variando de 16 a 24 N, enquanto que a concentração de plastificante provocou uma variação de 12 a 16 N. Esse comportamento está de acordo com o observado por Thomazine et al. (2005), que também verificaram que filmes plastificados com sorbitol apresentam valores de força na ruptura superiores ao de filmes plastificados com glicerol. Para a resposta deformação na ruptura (D), verificou-se que as variáveis T_p, C_p, C_{PVA} e as interações T_p x C_{PVA} e C_p x C_{PVA} tiveram efeito significativo. Observou-se ainda, da análise estatística dos coeficientes de regressão, que os parâmetros do modelo que apresentaram significância estatística foram T_p, C_p, C_{PVA} e as interações T_p x C_{PVA} e C_p x C_{PVA}, de forma que o modelo linear pôde ser expresso de acordo com a Equação 2.

$$D = 7,78 + 1,63T_p + 2,22C_p + 3,41C_{PVA} + 0,52T_p C_{PVA} + 0,77C_p C_{PVA} \quad (2)$$

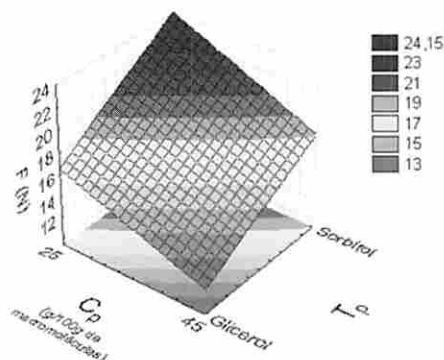


Figura 1 – Superfície de resposta do efeito da variação do tipo de plastificante (T_p) e concentração de plastificante (C_p) na força na ruptura (F).

Da análise da variância, verificou-se que o valor do coeficiente de regressão foi de 0,9520 e que o F_{calc} (103,25) foi 38 vezes superior ao valor de F_{tabelado} (F_{5,26} = 2,59), o que demonstra que o modelo linear, para a resposta deformação na ruptura, foi significativo e altamente preditivo. Assim, pode-se observar na superfície de respostas geradas com a Equação 2 (Figura 2), que os valores de D aumentaram para elevados valores da concentração de PVA e de glicerol. Comportamentos similares, em relação ao efeito da concentração de PVA e de plastificante, podem ser observados nos trabalhos de Chiellini et al. (2001b) e Sobral et al. (2001) respectivamente. Da mesma forma, de modo geral, devido principalmente à diferença de massa molecular do glicerol (92g/mol) e do sorbitol (182g/mol), têm-se verificado uma maior efetividade de plastificação por parte do glicerol (Thomazine et al., 2005; Vanin et al., 2005).

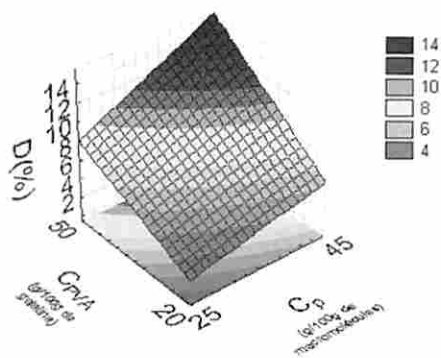


Figura 2 - Superfície de resposta do efeito da variação da concentração de plastificante (C_p) e da concentração de PVA (C_{PVA}) na deformação na ruptura (D).

Testes de tração

Para a resposta tensão na ruptura (TR), verificou-se dos tratamentos estatísticos que apenas a variável C_{PVA} e a interação $T_p \times C_{PVA}$ teve efeito significativo nesta resposta. Da mesma forma, os coeficientes de regressão destes parâmetros apresentaram significância estatística. Assim, o modelo linear pode ser expresso pela Equação 3. Entretanto, esse modelo não pôde ser considerado nem significativo e nem preditivo, devido ao baixo coeficiente de correlação (0,6179). Por causa disso, as superfícies de respostas utilizando o modelo linear não foram geradas.

$$TR = 17,26 + 7,70C_{PVA} - 9,80T_p C_{PVA} \quad (3)$$

Em relação a elongação na ruptura (E), verificou-se que as variáveis C_{PVA} , T_p e C_p e as interações $GH \times C_p$, $T_p \times C_{PVA}$ e $C_p \times C_{PVA}$ tiveram efeito significativo. Da mesma forma, da análise dos coeficientes de regressão do modelo linear, verificou-se C_{PVA} , T_p e C_p e as interações $GH \times C_p$, $T_p \times C_{PVA}$ e $C_p \times C_{PVA}$ foram significativos. Assim a equação do modelo linear para a resposta E pode ser expresso pela Equação 4.

$$E = 78,04 + 13,04T_p + 21,41 C_p + 37,25 C_{PVA} - 4,60GH C_p + 7,81T_p C_{PVA} + 7,21C_p C_{PVA} \quad (4)$$

Pela análise da variância, pôde-se verificar que valor do coeficiente de correlação foi 0,9494 e o valor de F_{calc} (67,10) foi cerca de 26 vezes superior ao valor de F tabelado ($F_{6,25} = 2,49$), o que indica que o modelo foi altamente significativo e preditivo.

Da análise da superfície de resposta (Figura 3) gerada com esse modelo, pode-se verificar que os valores de E são maiores em uma região específica, isto é, quando o plastificante glicerol é usado em altas concentrações, e com elevada concentração de PVA.

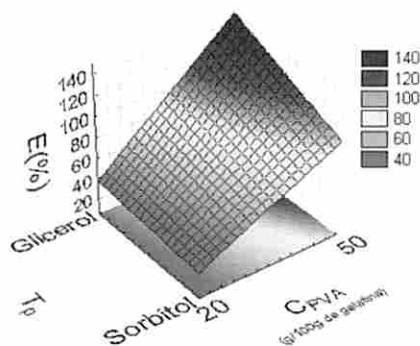


Figura 3 - Superfícies de resposta do efeito da variação da concentração de PVA (C_{PVA}) e do tipo de plastificante (T_p) na elongação na ruptura (E).

Chiellini et al. (2001a), trabalhando com filmes compostos de PVA e gelatina, e reforçado com fibras, também observaram que um aumento da concentração de glicerol provocou um aumento da E. Esse comportamento observado é bem conhecido e discutido em trabalhos com filmes a base de gelatina (Sobral et al., 2001; Thomazine et al., 2005; Vanin et al., 2005). Por outro lado, contrariamente ao observado neste estudo, para a faixa estudada (20 a 50 g de PVA/100g de macromoléculas), Zhang et al. (2004) observaram que um aumento da concentração de PVA na blenda em filmes à base de misturas de glúten e PVA provocou uma diminuição da E. Esses autores explicaram esse comportamento pela diminuição da miscibilidade entre as proteínas do trigo e o PVA, provocando, portanto, certa heterogeneidade da matriz polimérica.

Para o módulo elástico (ME), as variáveis C_p e C_{PVA} e as interações $GH \times C_p$ e $T_p \times C_{PVA}$ tiveram efeito significativo, assim como no caso dos coeficientes de regressão. O modelo linear para ME pode, portanto, ser expresso pela Equação 5.

$$ME = 2,48 - 0,91 C_p - 0,45 C_{PVA} + 0,54GH C_p - 0,79T_p C_{PVA} \quad (5)$$

Entretanto, em função do baixo coeficiente de correlação (0,60), esse modelo linear não pode ser considerado significativo e nem preditivo. Portanto, as superfícies não foram geradas.

CONCLUSÕES

Conforme o estudo realizado sobre as propriedades mecânicas de filmes a base de blendas pode-se concluir que T_p tem um efeito muito mais marcante do que C_p na força na perfuração e que além de T_p , C_{PVA} tem um efeito muito maior na deformação na perfuração, e que C_p , C_{PVA} e T_p afetam a elongação na ruptura.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP pelo financiamento (05/57781-8), e ao CNPq pela bolsa IC (PIBIC) de TMCT e bolsa PQI de PJAS.

REFERÊNCIAS

- Bergo, P.V.; Carvalho, R.A.; Sobral, P.J.A.; Bevilacqua, F.R.S.; Pinto, J.K.C.; Souza, J.P. 2006. Microwave Insertion Loss Measurements in Gelatin-Based Films. *Measurement Sci. and Technol.*, 17: 3261-3264.
- Bruns, R.E.; Neto, B.B.; Scarminio, I.S. 2003. Como fazer experimentos. 2 ed. Ed. Campinas.
- Carvalho, R.A.; Grosso, C.R.F. 2006. Properties of chemically modified gelatin films. *Brazilian J. of Chem. Eng.*, 23(1):45-53.
- Chiellini, E.; Cinelli, P.; Corti, A.; Kenawy, E.S. 2001a. Composite films based on waste gelatin: thermal-mechanical properties and biodegradation testing. *Polym. Degrad. and Stab.*, 73, 549-555.
- Chiellini, E.; Cinelli, P.; Fernandes, E.G.; Kenawy, E.S.; Lazerri, A. 2001b. Gelatin-based blends and composites. Morphological and thermal mechanical characterization. *Biomacromol.*, 2:806-811.
- Finch, C.A. 1983. Chemistry and technology of water-soluble polymers. *Polym.*, 5:81-112.
- Matsumura, S.; Tomizawa, N.; Toki, A.; Nishikawa, K.; Toshima, K. 1999. Novel poly(vinyl alcohol) degrading enzyme and the degradation mechanism. *Macromol.*, 32:7753-7761.
- Sobral, P.J.A.; Menegalli, F.C.; Hubinger, M.D.; Roques, M.A. 2001. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. *Food Hydroc.* 15:423-432.
- Thomazine, M.; Carvalho, R.A.; Sobral, P.J.A. 2005. Physical Properties of Gelatin Films Plasticized by Blends of Glycerol and Sorbitol. *J. of Food Sci.*, 70:172-176.
- Vanin, F.M.; Sobral, P.J.A.; Menegalli, F.M.; Carvalho, R.A.; Habitate, A.M.Q.B. 2005. Effects of plasticizers and their concentrations on thermal and functional properties of gelatin based films. *Food Hydroc.*, 19:899-907.
- Zhang, X.Q.; Bugar, I.; Lourbakos, E.; Beh, H. 2004. The mechanical property and phase structures of wheat proteins/ poly(vinyl alcohol) blends studied by high-resolution solid-state NMR. *Polym.*, 45:3305-3312.

ANÁLISIS DE TEXTURA EN QUESO CRIOLLO PARA ASOCIARLA CON PORCENTAJE DE HUMEDAD Y PERFIL HIGIÉNICO, MEDIANTE EL PROCESAMIENTO DE SEÑALES EN UMBRAL BAJO ULTRASÓNICO

Gutiérrez De Piñeres Carlos¹, Fragoso Elia², David Tannia², Janer Conrado¹, Félix Beltrán¹

1. Centro Biotecnológico del Caribe, SENA, Km. 7 Vía La Paz. beto_ciencia@yahoo.com

2. Universidad de Santander-UNDES, Kr 6 No. 6-27 joince11@hotmail.com
Valledupar, Cesar, Colombia.

Palabras claves: Queso criollo, textura, señal, perfil higiénico, humedad.

RESUMEN

En la ciudad de Valledupar, departamento del Cesar en el norte de Colombia, semanalmente son comercializados cerca de 1.000 Kg. de queso criollo en cada una de las queseras de dicho municipio, las cuales tienen como proveedores a dos o tres hatos productores de queso. Las condiciones de producción de queso criollo en hatos son deficitarias en medidas higiénicas, en consecuencia el 95 % de estos quesos presentan distintos niveles de textura; desde los denominados "blandos" hasta "extraduros," intimamente ligada a los cambios internos por procesos fermentativos de Coliformes. Uno de los métodos emergentes para la determinación de textura sin destrucción de la muestra es la detección ultrasónica, que ha sido usada para determinar las propiedades reológicas de alimentos. Se diseñó y construyó un dispositivo interfazado a un software de procesamiento de señales, luego de estandarizar el sistema de emisión - detección de la señal que surge a la textura de queso, se cuantificaron las variables medidas con el espectro de sonido y se compararon con las constantes físicas del sonido ya existentes. Se realizó un proceso de calibración con materiales de textura conocida y cambio de frecuencia emisora.

INTRODUCCIÓN.

En la ciudad de Valledupar semanalmente son comercializados cerca de 1000 Kg de queso costeño en cada una de las queseras de dicho municipio, las cuales tienen como proveedores dos o tres hatos productores de queso. Datos consolidados del departamento señalan cerca de 250 casos de intoxicación alimentaria por consumo de quesos criollos provenientes de hatos con bajo perfil higiénico, los cuales presentan recuentos bacterianos por encima de la norma microbiológica (3.000 Ufc /g Coliformes Totales) cuya actividad lacto-fermentativa genera cambios profundos en la textura de los quesos. Luego sería posible asociar dicha textura a un nivel de contaminación determinado, pero, el problema radica en lo heterogéneo de la textura haciéndose necesario primero caracterizar los distintos niveles de la misma, preferiblemente empleando una técnica no destructiva.

Los organismos estatales obligados a establecer controles estrictos, en la actualidad no disponen de una técnica preventiva eficaz para hacer determinaciones de un perfil higiénico in situ. El impedimento se debe al gran número de muestras necesarias para los análisis microbiológicos convencionales incurriéndose en altos costos (\$50.000 / análisis) al comprarse la unidad muestral ya que se tratan de técnicas destructivas. El presente trabajo tuvo como objetivo analizar la textura en queso criollo, mediante el procesamiento de señales en umbral bajo ultrasónico para asociarla con el porcentaje de humedad y perfil higiénico de quesos criollos elaborados en hatos lecheros, contribuyendo así al incremento en los niveles de productividad.

METODOLOGÍA.

Primero se realizó un muestreo probabilístico con bloques de quesos criollos de 25 libras, comercializados en los 50

expedios de Valledupar, cuantificando los distintos niveles de textura en lb.-fuerza con un penetrómetro de Bertuzzi, para establecer una clasificación definiendo intervalos según ecuación 1 y 2. También se determinó la humedad empleando una balanza digital de infrarrojo.

$$m = 1 + 3.3 \cdot \log n \quad [1]$$

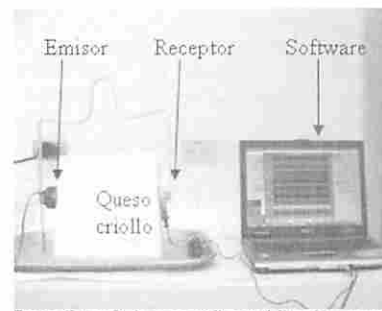
$$C = \text{rango} / m \quad [2]$$

Donde, m= # de clasificaciones

n= tamaño de muestra

C= Intervalos

Luego se diseñó y construyó un dispositivo interfazado a un software de procesamiento de señales, el cual consistió en un sistema de emisión-recepción de un sonido con frecuencia de 12.000 Hz. ilustrado en la figura 1.



Fuente: Fotografía de queso criollo con el dispositivo.

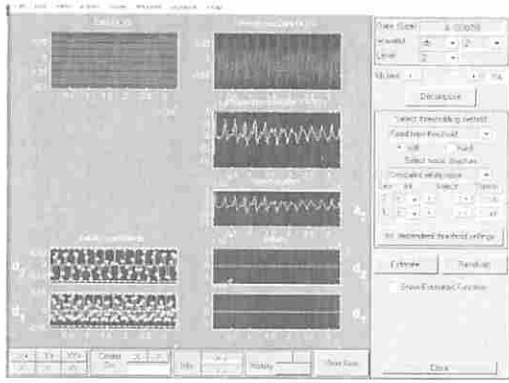
Fuente: Fotografía de queso criollo con el dispositivo, tomada en Laboratorio de Ciencias Básicas del Centro Biotecnológico del Caribe, SENA, Colombia, año 2006.

Figura 1. Dispositivo de Emisión-Recepción, interfazado al software de tratamiento de señales.

Previamente se realizó un proceso de calibración con materiales de dureza conocida y cambio de frecuencia emisora. Las señales sónicas del receptor se enviaron y procesaron con un software de procesamiento de señales (figura 2), el cual permitió cuantificar las variables medidas con el espectro de sonido y compararlo con las constantes físicas del sonido ya existentes. Los bloques de quesos criollos poseían una dimensión de 25 cm. de alto, 30 cm. de ancho por 30 de largo, estas medidas pueden desviarse en 2 cm. el parámetro seleccionado fue el ancho por tener la medida más unificada entre hatos productores.

El software descompone la señal en Aproximaciones (baja frecuencia) y Detalles (alta frecuencia) a través de filtros pasa bajo y pasa alto y luego entrega un consolidado estadístico del comportamiento de cada frecuencia.

Paralelo a lo anterior se determinó presencia de coliformes fecales por el método de recuento de bacterias. Fueron practicadas tres repeticiones con cuatro replica en cada clasificación, realizando dos registros de señales por unidad de muestra según se ilustra en la figura 1.

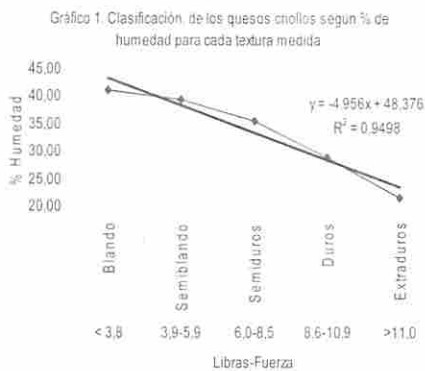


Fuente: Macrofotografía de la pantalla del software tomada en Laboratorio de Ciencias Básicas del Centro Biotecnológico del Caribe, SENA, Colombia, año 2006.

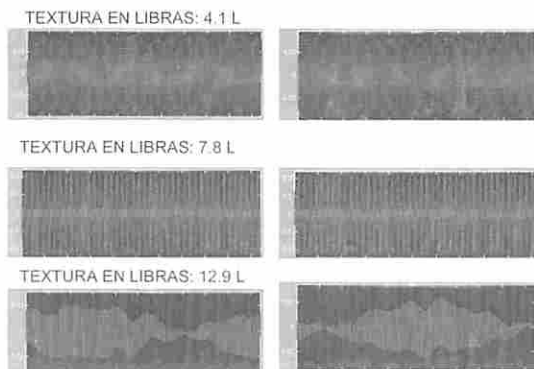
Figura 2. Pantalla del Software procesando las señales.

RESULTADOS.

De la ecuación 1 y 2, se obtuvo una clasificación con 5 parámetros con intervalos de 2,3, aproximadamente. Nótese en el gráfico 1 que el contenido de humedad con la textura presenta alto grado de correlación ($R=0.95$) los quesos denominados blandos aun presentan una marcada sinéresis, no obstante los extraduros presentan aspecto agrietado en la corteza y en el interior, resultando difícil cortarlos uniformemente con un cuchillo filoso pues ocurría desmoronamiento.



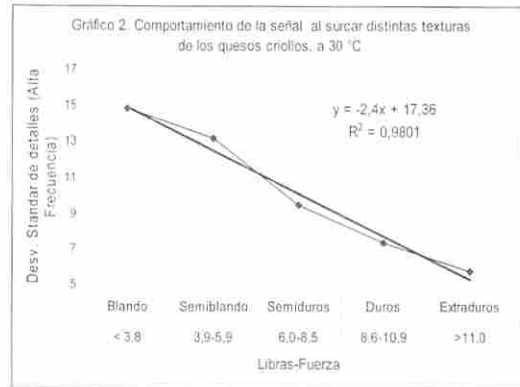
En la figura 3 se presentan algunas imágenes (entregadas por el software de la Toolbox *wavelet* de Matlab 6.5.) de las señales al surcar las texturas de los quesos criollos a 30 °C.



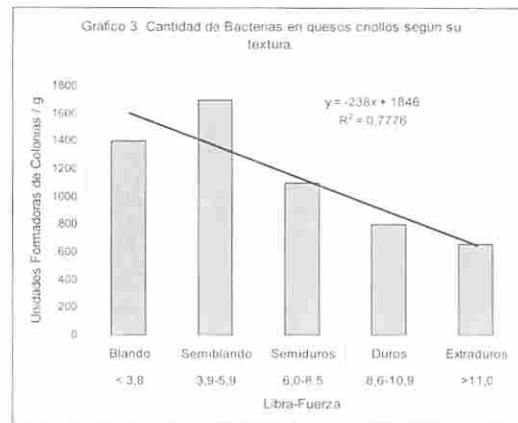
Fuente: Fotografía tomada en Laboratorio de Ciencias Básicas del Centro Biotecnológico del Caribe, SENA, Colombia, año 2006.

Figura 3. Imágenes espectrales de las señales sónicas, salida nominal de emisor 12.000 Hz.

Se encontró que la Desviación Estándar de las altas frecuencias es inversamente proporcional a la textura, presentando alta correlación ($R=0.98$), ver gráfico 2.



El gráfico 3 muestra el perfil higiénico expresado en UFC de Coliformes fecales /g en el queso criollo el alto valor de $R=0,8$, señala buena correlación inversa entre las UFC/ g y la textura de los quesos criollos.



CONCLUSIÓN. Se logró asociar la textura con la humedad de los quesos criollos elaborados en hatos, tomando la desviación estándar de alta frecuencia como parámetro de la señal. Se identificaron a los coliformes fecales como los microorganismos de mayor presencia en estos quesos, que disminuyen al aumentar la textura.

AGRADECIMIENTOS. Centro Biotecnológico del Caribe, SENA, y Universidad de Santander, UDES, Valledupar, Colombia.

BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS

Boletín informativo N° 10 Cámara de comercio de Valledupar.
 Álvarez C., Informe Preliminar "Comportamiento de las enfermedades transmitidas por alimentos", en el departamento del cesar, año 2005
 Antoniadiis A.; D.T Pham "Wavelets regression for random or irregular design,"Comp. Stat abd Data Analysis, 28, pp.353-369(1998).
 Antoniadiis, A.; G. Gregoire "Density and Hazard rate estimation for right-censored data using wavelet methods", J.R. Statist.Soc.B, 62, 1.
 Coifman,R.R.D.L. Donoho "Translation invariant de-noising", Lecture Notes in Statistics,103,pp.125-150,1995.

DETERMINACION DE LA DEMANDA QUIMICA DE OXIGENO EN EFLUENTES DE INDUSTRIAS DE LACTEOS CON UN METODO AMIGABLE AL MEDIO AMBIENTE

Cárdenas, Fernando. y Tripaldi, Piero.

Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad del Azuay, Cuenca, Ecuador

Palabras clave: DQO, Algoritmo Genético, Banda Ultravioleta.

RESUMEN

Las aguas provenientes de las industrias de lácteos tienen un elevado contenido de sustancias orgánicas biodegradables y por consecuencia una alta demanda de oxígeno. El parámetro más utilizado para la determinación del grado de afectación al agua por este tipo de industria es la determinación de DQO en las aguas de deshecho. El método presenta varias deficiencias, por lo cual es de gran importancia la búsqueda de nuevas metodologías para la eficiente determinación de este parámetro. Se evaluó el DQO clásico y el espectro de bandas ultravioletas sobre las aguas residuales de la Planta Piloto de Lácteos. Se construyó un modelo mediante algoritmos genéticos el cual determinó que existe una correlación entre el DQO clásico y el espectro de bandas ultravioletas. En el modelo las bandas utilizadas fueron: 220, 260, 270, 310nm las cuales servirán para la determinación del DQO. Con este método podemos minimizar varias de las deficiencias que presenta el método clásico de determinación de DQO.

INTRODUCCION

En los últimos años el recrudecimiento de los problemas ambientales relacionados con las actividades humanas han creado una gran presión sobre los recursos naturales en especial sobre el agua. La mala distribución y consumo excesivo del agua han producido graves problemas de contaminación. En la industria se utiliza gran cantidad de agua, que es contaminada dependiendo de la industria y no es recuperada (Glynn, 1999).

La industria láctea consume gran cantidad de agua la cual es utilizada en todos los procesos de fabricación de los diferentes productos. En el Ecuador el requerimiento al año por persona es de 110 litros de productos lácteos. Cada día en el país se producen 4,4 millones de litros de los cuales el 42% son empleados por la industria, el resto corresponde a la leche no procesada que se vende sobre todo en el área rural. La producción industrial destina el 41% de su producción a la leche en funda, el 24% a quesos, el 15% a leche en cartón, el 11% a leche en polvo, el 7% a yogur y el 2% a otros (Álvarez, 2006).

Estos altos requerimientos diarios de la sociedad ecuatoriana en gran manera han incrementado los problemas ambientales relacionados con la industria láctea sobre todo en el recurso agua. Las aguas provenientes de estas industrias tienen un elevado contenido de sustancias orgánicas biodegradables y por consecuencia una alta demanda de oxígeno (Bianucci, 1992).

Las aguas residuales de este tipo de industria provienen del lavado de los tanques de recepción, lavado de conducciones, sistemas de evaporación y lavados en los procesos de producción de los diferentes productos. Las aguas residuales de la fabricación de quesos son las que difieren de otros procesos, son aguas ácidas por la presencia de suero y son las que más sólidos en suspensión presentan debido al cuajo. El resto de productos presenta vertidos neutros o ligeramente alcalinos con tendencia a ser ácidos por la fermentación del azúcar para transformarse en ácido lácteo (Sans, 1999).

El parámetro más utilizado para la determinación del grado de afectación al agua por este tipo de industria es la determinación de Demanda Química de Oxígeno (DQO) en las aguas de deshecho. El DQO es el equivalente de oxígeno para descomponer la materia orgánica contenido en una muestra susceptible de oxidación a un oxidante químico fuerte (APHA, 1998).

Estas técnicas son empleadas en la mayoría de legislaciones ambientales como referencia para evaluar el potencial contaminante de un efluente por lo cual es de gran importancia este método.

El método presenta varias deficiencias, el procedimiento patrón utiliza dicromato de potasio en medio ácido a temperaturas elevadas lo que puede producir accidentes en laboratorio y la utilización de catalizadores como sulfato de plata que tiene un elevado costo. Esta técnica genera residuos que contienen un pH ácido y metales como el Cromo y la Plata, la digestión demora dos horas lo cual se transforma en un alto costo energético, acarea un tiempo de análisis elevada, la reproductividad de la técnica es bastante baja elevando los errores a un 30% (Peralta, 2005).

Esto ha incentivado la búsqueda de nuevas técnicas que sean amigables con el medio ambiente y que tengan los mismos resultados que la técnica clásica de determinación del DQO. Se ha determinado que existe una alta correlación entre las señales espectro-fotométricas y el DQO para diversos residuos industriales. Principalmente considerando el área espectral de los 200 a los 700 nm (Peralta, 2005).

Con los datos del área espectral mediante una selección de las bandas por algoritmos genéticos se determinó que existe una correlación entre las diferentes bandas espectrales y el DQO clásico.

Los Algoritmos Genéticos son métodos adaptativos que se basan en el proceso genético evolutivo de los organismos vivos. Un algoritmo genético consiste en un ciclo iterativo de creaciones de conjuntos (cromosomas) de variables originales. Estos conjuntos producen modelos de regresión OLS de los cuales se evalúa la calidad generalmente mediante el Q^2_{cv} . Son retenidos los mejores y sobre esta población se procede al apareamiento de cromosomas y a mutaciones para producir nuevos conjuntos predictores. Se retienen siempre los mejores y se repite el ciclo hasta alcanzar la calidad de la regresión deseada (Todeschini, 1998).

Con la regresión de algoritmos genéticos se tienen las bandas espectrales más significativas con las cuales se determinó la DQO. Este método reduce la utilización de compuestos químicos perjudiciales al medio ambiente, se disminuye el error, debido a la poca manipulación de la muestra, el gasto energético se reduce, el costo del análisis es bajo.

MATERIALES Y METODOS

El presente estudio se realizó en la Universidad del Azuay, en la Facultad de Ciencia y Tecnología en la planta piloto de Lácteos perteneciente a la Escuela de Ingeniería en Alimentos. Los muestreos se realizaron periódicamente, es decir, estos incluyeron todas las actividades de manufactura de los diferentes productos de la Planta. Con esto se llegó a establecer un monitoreo continuo. En las 81 muestras obtenidas se determinó la DQO mediante el método clásico (APHA, 1998) y además se analizó el espectro de bandas ultravioletas a las siguientes longitudes de onda: 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310 nm (200-400 nm) de las diferentes muestras mediante espectrofotómetro LAMBDA 2 –Perkin Elmer.

Los valores obtenidos se auto-escalaron mediante transformación Z para que su importancia en el modelo de regresión no dependa del tamaño de la longitud de onda actual. (Ildiko, 1994)

La selección de las bandas óptimas para la construcción del modelo de regresión entre la absorbancia se realizó mediante la utilización de un Algoritmo Genético implementado en el programa MOBY-DIGS que ha sido puesto a disposición por su autor (Todeschini y colaboradores, 2004).

Los Algoritmos Genéticos son métodos adaptativos que pueden usarse para resolver problemas de búsqueda y optimización de sistemas. Están basados en el proceso genético evolutivo de los organismos vivos. En los algoritmos genéticos se simula el proceso de selección natural y supervivencia en donde los más aptos sobreviven. De esta manera se obtiene un conjunto óptimo de variables base de la regresión (Massart, 1997).

El modelo de regresión multivariante de mínimos cuadrados se calculó mediante: (Draper, 1966)

$$b = (X^T X)^{-1} X^T Y$$

Donde:

b= vector de los coeficientes del modelo

X= matriz de las variables predictoras (absorbancia normalizada a las longitudes de onda escogidas por el algoritmo genético)

y= respuestas experimentales (Valores de DQO obtenidos)

El mejor modelo obtenido ha sido validado mediante cross-validation con el 10% de los casos seleccionados al azar y ubicados en el test set. Mediante gráfico de Williams en el cual se grafican los residuos estudentizados en predicción "Jackknifed":

(Draper, 1966)

$$r_{i,10} = \frac{r_i}{s_i \sqrt{1-h_{ii}}}$$

Donde:

Los leverages de los puntos experimentales

$$h_{ii} = x_i^T (X^T X)^{-1} x_i$$

Donde:

Se ha controlado la aptitud de las variables predictoras para producir un buen modelo y la calidad de la selección de los puntos experimentales.

El diagnóstico del modelo se ha realizado con el paquete SCAN (Todeschini y colaboradores, 1995).

RESULTADOS

Los espectros ultravioletas de algunas muestras se presentan en la figura No: 1.

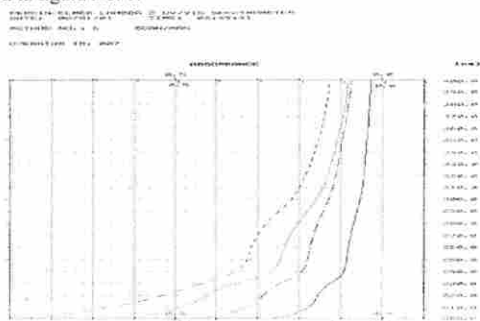


Figura 1: Espectros de las muestras

El Algoritmo genético seleccionó como mejor conjunto de variables independientes para la regresión a las siguientes longitudes de onda:

220, 260, 270,310 nm.

El modelo de regresión obtenido ha sido:

$$DQO = b_0 + b_1 \lambda_{220nm} + b_2 \lambda_{260nm} + b_3 \lambda_{270nm} + b_4 \lambda_{310nm}$$

$$DQO = -0.0188 + 0.7081 \lambda_{220nm} - 1.093 \lambda_{260nm} + 1.315 \lambda_{270nm} + 0.2462 \lambda_{310nm}$$

Los parámetros de calidad del modelo de regresión se presentan en la tabla No: 1

Tabla 1: Parámetros de calidad del modelo

Parámetro	Valor
R ²	0.95
R ² _{Cv,100}	0.94
R ² _{Cv(10%)}	0.939
K	0.569

El análisis de la varianza del modelo de regresión se presenta en la tabla No: 2.

Tabla 2: Tabla de ANOVA del modelo seleccionado

Fuente	g.l	SS	MS	F	p
Modelo	4	71.66	17.91	351.7	0.0000
Residuos	76	3.871	0.05094		
Total	80	75.53			

En la figura No: 2 se presenta el gráfico de los valores de DQO experimentales, los calculados en interpolación por el modelo y los calculados en predicción.

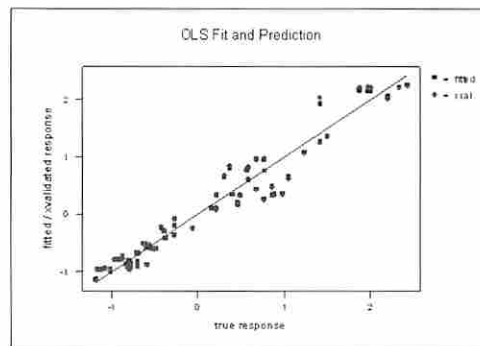


Figura 2: Relación entre DQO experimental y los valores calculados en interpolación y predicción por el modelo propuesto.

La panorámica general de las características del modelo y de la distribución de los datos experimentales se presenta en el gráfico de Williams de la figura No: 3.

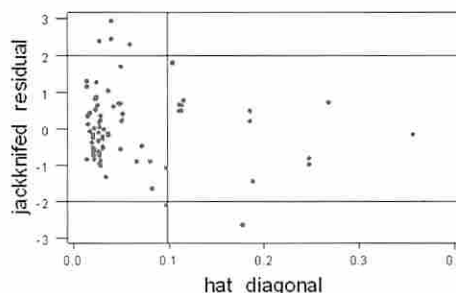


Figura 3: Grafico de Williams del modelo propuesto.

La inspección del grafico de la figura No: 3 muestra que:

- a) 6 valores calculados sobre un total de 81 (7.4%) presentan residuos anómalos, es decir que tienen una probabilidad inferior al 5% de pertenecer a la población problema.

- b) 13 puntos experimentales sobre 81 (16%) presentan una "leverage" que supera el nivel crítico de aproximadamente 0.1.

CONCLUSIONES:

La selección de las variables importantes realizada con algoritmo genético ha proporcionado un buen modelo de regresión que conjuga una notable capacidad predictiva ($R^2_{cv(10\%)} = 0.939$) junto con una inevitable correlación entre predictores, tratándose de absorbancias medidas en un espectro, moderadamente baja ($K=0.57$) lo que permite concluir que el modelo es válido en predicción y respeta suficientemente al requisito del método de mínimos cuadrados de no correlación entre variables predictoras.

El modelo de regresión encontrado nos permite la utilización del mismo para la determinación de la DQO en aguas residuales de Industrias Lácteas.

Mediante el método se puede llevar un monitoreo casi inmediato de la planta para poder encontrar diferencias en la producción de residuos en relación a los diferentes productos que se manufacturan en la planta.

Con este método se reduce la contaminación en el momento del análisis al no utilizar sustancias químicas perjudiciales para el medio ambiente, el tiempo del análisis es rápido, se disminuye el error de la prueba, se minimiza los accidentes en el laboratorio y el costo del análisis es bajo si se construye el modelo y si se tiene un espectrofotómetro UV-Vis.

AGRADECIMIENTOS:

Agradecemos al Dr. Roberto Todeschini por habernos gentilmente prestado su programa MOBYDIGS para los cálculos.

BIBLIOGRAFIA

- Álvarez, F. 2006. El Sector Lácteo en el País. www.hoy.com.ec
- Bianucci, G. Rivaldone, E. 1992. Il Trattamento delle Acque Inquinata. Ulrico Hoepli Editore, Milano, Italia. 287:318 p.
- Draper, D., Smith, H., 1966. Applied Regression Analysis. John, Wiley & Sons, Inc, New York, USA. 44:81p.
- Glynn, H. Gary, W. 1999., Ingeniería Ambiental. Segunda Edición. Prentice Hall, DF, Mexico. 384:392 p.
- Hidiko, F., Todeschini, R. 1994. The data análisis handbook. Elsevier Science, Amsterdam, The Netherlands. 333-335 p.
- Massart, D. L., B. G. M., Buydens, L. M. C., 1997. Handbook of Chemometrics and Qualimetrics. Elsevier Science B. V. Amsterdam, The Netherlands. 805:844 p.
- Draper, D., Smith, H., 1966. Applied Regression Analysis. John, Wiley & Sons, Inc, New York, USA. 44:81p.
- Peralta, P., 2005. Utilizacáo de regressáo multivariata para avaliacáo espectrofotométrica de Demanda Química de Oxigenio en amostras de relevancia ambiental. 28(5): 383-841
- Sans, F. Ribas, P., 1999. Ingeniería Ambiental Contaminación y Tratamientos. Alfaomega, Barcelona, España, 84 p.
- WPCF, APHA, AWWA. , 1998. Métodos Normalizados Para el Análisis de Aguas Potables. American Public Health Association. Madrid, España. 5-12 p.
- R. Todeschini, D Ballabio, V. Consonni, A Mauri and M. Pavan (2004). MobyDigs-Version 1.0-2004-Copyright Talete srl.
- Todeschini, R. , 1998. Introduzione Alla Chemiometria. Edises. Napoli, Italia. 171:178p.
- WPCF, APHA, AWWA. , 1998. Métodos Normalizados Para el Análisis de Aguas Potables. American Public Health Association. Madrid, España. 5-

APLICACIÓN DE PULSOS ELÉCTRICOS DE BAJA INTENSIDAD PARA CONTROLAR ATAQUES FÚNGICOS EN UNA FRUTA TROPICAL.

Gutiérrez De Piñeres Carlos¹, Torres Rodelo Mónica², David Venegas Tannia²,

1. CENTRO BIOTECNOLÓGICO DEL CARIBE, Km. 7 Vía La Paz.

2. UNIVERSIDAD DE SANTANDER UDES, Carrera 6 # 14-27

udessena@gmail.com

Valledupar, Cesar, Colombia.

Palabras claves: Hongos, uchuva, pulsos eléctricos

RESUMEN

Colombia es el primer productor de Uchuva (*Physalis peruviana L.*), en el mundo, seguido por Sudáfrica, de ahí radica la importancia de haber realizado el presente trabajo, el cual, se inició con la caracterización física a nivel micro y macroscópica del agente causal del deterioro microbiológico de la uchuva; el hongo encontrado fue asociado microscópicamente con *Fusarium sp.* Seguido las frutas se trataron con Altos Campos de Pulsos Eléctricos de Baja Intensidad para disminuir las pérdidas poscosecha por ataques de hongo en una fruta tipo exportación. En un prototipo a escala de laboratorio fueron aplicados tratamientos con pulsos bipolares de 15 Kv/cm., a diferentes tiempos, a Uchuvas con microorificios de penetración en la zona ecuatorial, sumergidas en una solución de agua destilada estéril previamente inoculada con 200 esporas/ml de *Fusarium sp.*, se practicaron 5 repeticiones. Los mejores resultados se obtuvieron con 20 segundos de tratamiento, equivalente a unos 1.200 pulsos bipolares

INTRODUCCIÓN.

Colombia con una producción de 7.000 Ton. / Año, es el primer productor Mundial de Uchuva (*Physalis peruviana L.*), seguido por Sudáfrica [1]. Los principales departamentos productores son Cundinamarca con el 84%, seguido por Antioquia 8,86% y Boyacá 6,08%. Su producción a nivel nacional se ha incrementado con una tasa anual del 36,9% [2]. La producción se ve afectada en poscosecha por la presencia de hongos como *Cercospora sp.*, principalmente, los cuales afectan la calidad de la fruta generando pérdidas cercanas al 21,3%, es decir 1.512 Ton. / año [3]. En la actualidad se vienen aplicando pulsos eléctricos de alta intensidad para disminuir la carga microbiana en frutas [4]. El trabajo tiene como propósito disminuir las pérdidas poscosecha por ataque de hongos en una fruta tropical tipo exportación aplicando Pulsos Eléctricos de Baja Intensidad.

METODOLOGÍA.

Empleando un microscopio de luz convencional se practicó una microexploración enfocada en la morfología del patógeno. Luego con un prototipo a escala de laboratorio fueron aplicados tratamiento con pulsos bipolares de 15 Kv /cm. empleando una recámara coaxial (figura 1) con electrodo central de Wolframio y perimetral de acero inoxidable.

Se practicaron cuatro tratamientos con 5, 10, 15 y 20 segundos de duración, para ello se sumergieron 5 Uchuvas (*Physalis peruviana L.*) a las cuales se les había practicado micro aperturas de penetración en la epidermis en la zona ecuatorial para acelerar las condiciones del ataque fúngico en 0.2 litros de agua destilada estéril con 200 esporas / ml del hongo *Fusarium sp.* por tratamiento [5]. Paralelamente se cuantificó el crecimiento del hongo en medio agar Sabouraud, en caja de Petri. Cada tratamiento tuvo su respectivo control, se practicaron 5 réplicas. Luego las uchuvas fueron almacenadas a 12 °C durante 5 días de observación inicial y después un seguimiento hasta el día de aparición de deterioro.

Para determinar la actividad biológica se desarrolló el concepto de Índice de Actividad Biológica (IAB), mediante la cuantificación del diámetro de micelios fúngicos tanto en las frutas como en las cajas de Petri, aplicando la siguiente fórmula:

$$IAB = \sum N^{\circ} \text{fruta} \times \text{área de cada fruta} \quad (\text{Ec.1})$$

RESULTADOS

El hongo encontrado fue asociado ópticamente con *helminthosporium sp.* Y *Fusarium sp.* Ver macrofotografía 2.

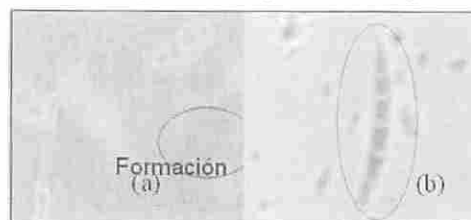


Figura 2. Macroconidias (a) de *Helminthosporium sp.*, y (b) de *Fusarium sp.*

Fuente: Macrofotografía tomada en laboratorio de Microbiología Industrial, aumentada 1500 veces, año 2006.

Cuadro 1. Consolidado índice actividad biológica con tratamiento de 15 segundos.

Consolidado Índice de Actividad Biológica, con 15 segundos 15 kv					
Día	1	2	3	4	5
Control	2.1	3.1	16.2	22.8	42.8
Experimental	0	0	0	1.0	2.1

Con respecto a este bloque experimental de 15 segundos con descarga eléctrica de 15 Kv, se pudo evidenciar que el último día hubo crecimiento muy mínimo con referencia al control.

Cuadro 2. Consolidado Índice Actividad Biológica con tratamiento de 20 segundos.

Consolidado Índice de Actividad Biológica, con 20 segundos 15 kv					
Descriptor	1	2	3	4	5
Control	1.0	4.2	14.7	20.7	39.1
Experimental	0	0	0	0	1.0

De acuerdo con los resultados obtenidos en la aplicación de los APEs con un tiempo de exposición de 20 segundos para la misma descarga eléctrica no se apreció crecimiento durante los 5 días iniciales de observación, sólo en el décimo día de seguimiento se pudo ver crecimiento, demostrándose así la eficacia de este tipo de tratamiento, pues inhibe el crecimiento fúngico en aproximadamente el tiempo de evaluación, lo que favorece la conservación de la fruta en estudio.

La tabla estándar de ANOVA registra un valor probabilístico de 0.0015, lo que indica que la actividad biológica del hongo en estudio fue inhibida en los distintos bloques experimentales.

ANOVA Table					
Source	SS	df	MS	F	Prob>F
Columns	3196.99	7	456.713	4.46	0.0015
Error	3280.06	32	102.502		
Total	6477.05	39			

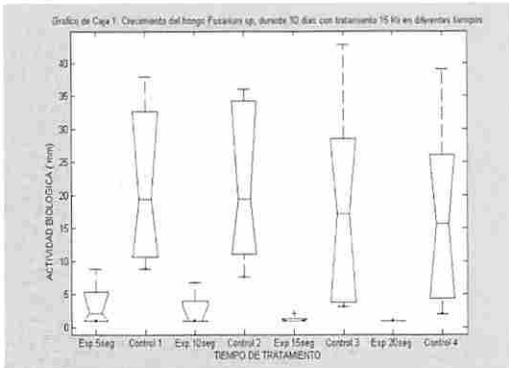


Figura 4. Tabla de ANOVA y gráfico de cajas que muestra la diferencia entre tratamientos.

Nótese en el gráfico de cajas que las grandes corresponden a mayores IAB del microorganismo, mientras que las cajas pequeñas (experimental) revelan menor crecimiento de este.

CONCLUSIÓN.

En cinco repeticiones de aislamiento y purificación la frecuencia de la microestructura compatible ópticamente con el *Helminthosporium sp.*, y *Fusarium sp.* fue del 100 % en los montajes realizados; no se encontró otro tipo de hongo.

Los tratamientos con pulsos eléctricos de baja intensidad en tiempos cortos, inferiores a 20 segundos, aplicados a 0.2 litros de solución, con la concentración de esporas demuestran ópticamente, el acicalamiento o inhibición del crecimiento fúngico en la uchuva (*Physalis peruviana L.*).

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Santander (UDES), Centro de Investigaciones CIUDES y Facultad de Bacteriología, Centro Biotecnológico del Caribe SENA regional CESAR.

BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS

1. Díaz Ríos L, Pedraza Roncancio J. 2003. Cuantificación y caracterización de pérdidas poscosecha en Uchuvas (*physalis Peruviana L.*). *Caracterización de los productos hortofrutícolas Colombianos y establecimiento de las normas técnicas de calidad.* Editorial CENICAFE, SENA, Cali, Colombia abril de 2004.
2. Fischer, Gerhard y Almanza. Nuevas Tecnologías en el Cultivo de la Uchuva *Physalis Peruviana L.* En revista Agrodesarrollo, Vol.4 No 1-2 1993, Pág. 294.
3. Fischer, Gerhard y Almanza P. *Nuevas tecnología en el cultivo de la uchuva Physalis Peruviana L.* Universidad nacional de Colombia Facultad de Agronomía.
4. Juárez M, Barbosa R, Bautista S. *Conservation of strawberry with electrical pulses of high field intensity* International congress on Engineering and Food. Montpellier 7-14 March 2004
5. Camino de Vera s/n. Study of waxing effect on respiration and volatile production in lemons fruit Inoculated with *Penicillium Digitatum*. Departamento de Tecnología de Alimento, Universidad Politécnica de Valencia International Congress on Engineering and Food. Montpellier 2003.
6. Carvalho Cp, Ortolá M.D, Fito P Study of waxing effect on respiration and volatile production in lemos fruit inoculated with *Penicillium digitatum* International Conference Engineering and Food ICEF9-2003.
7. TOUSSOUN, T. A. Nelson, P.E. Apictorial guide to the identification of *Fusarium* Species according to the taxonomic system of snider and Hansen, 2º Ed. University Park Pennsylvania State University Press. 1976. 43 p.

EXTRACCIÓN DE POLIFENOLES DEL TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum Betaceum Cav.*) UTILIZANDO ENZIMAS

Beltrán, Elena; Vera, Edwin y Ruales, Jenny
 ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
 DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA
 Pasaje Andalucía E 12A y Veintimilla
 Casilla 17-01-2759. E. mail. elenarbs@yahoo.es
 QUITO - ECUADOR

Palabras clave: tomate de árbol, *Solanum Betaceum Cav.*, extracción, enzimas, polifenoles.

RESUMEN

Se estudió la extracción de polifenoles de la cáscara, pulpa y placenta del tomate de gigante morado, utilizando hidrólisis enzimática como pretratamiento. Se utilizaron soluciones acuosas con Pectinex® Ultra SP-L, Pectinex® BE XXL, Cellubrix y Rapidasa vegetable juice, a diferentes temperaturas y concentraciones de enzima. La enzima Rapidasa vegetable juice permitió una mayor extracción de polifenoles y antocianinas para la cáscara y la placenta, mientras que para la pulpa los mejores resultados se obtuvieron utilizando Rapidasa vegetable juice y Pectinex® BE XXL.

INTRODUCCIÓN

Los compuestos fenólicos constituyen uno de los grupos de metabolitos más numerosos en las plantas. Tradicionalmente han sido considerados como antinutrientes, sin embargo en la actualidad han alcanzado gran interés debido a sus propiedades antioxidantes (Bravo, 1998).

Varios compuestos fenólicos, como los taninos, se encuentran ligados a los componentes de la pared celular, compuesta principalmente por celulosa, hemicelulosa y pectina, por lo tanto en la extracción los polifenoles son retenidos en la fibra. Esto explica que el uso de enzimas pectolíticas mejora la extracción de los compuestos polifenólicos celulares de la uva, en la maceración del vino (Taiz y Zeiger, 1991; Bravo, 1998; Escarpa y González, 2000; Palacios *et al.*, 2001).

MATERIALES Y METODOS

La materia prima utilizada fue tomate de árbol morado gigante procedente de Baños, (Ecuador) y transportado a la Escuela Politécnica Nacional en Quito. El tiempo de transporte aproximado fue de tres horas.

En la planta piloto los tomates fueron seleccionados, lavados, pelados y cortados. La cáscara, placenta y pulpa del tomate fueron separadas, pesadas y colocadas en fundas plásticas de un peso aproximado de 500g. Las muestras fueron almacenadas en congelación a -18°C.

Preparación del jugo

Las mezclas se prepararon con las siguientes relaciones en peso:

Pulpa: agua 1:2, placenta: agua 1:1, cáscara: agua 1:4

Las enzimas utilizadas fueron: Pectinex® ultra SP-L (Poligalacturonasa), Pectinex® BE XXL (Pectinilasa/Poligalacturonasa), Cellubrix (Celulasa) y Rapidasa vegetable juice. Las variables fueron la temperatura (20 y 30°C) y la concentración de enzima (0.5 y 1ml de enzima/kg de muestra).

Luego de la hidrólisis enzimática se tomaron alícuotas de 50ml de jugo cada 20 min y se centrifugó a 4 °C por 10 min a 8000 rpm en una centrifuga marca Universal 16R. Después se recogió alícuotas de 10 ml del sobrenadante para los análisis respectivos. Las muestras fueron almacenadas en refrigeración a 8 °C, durante un día.

Análisis

Para determinar el contenido de polifenoles solubles totales en el sobrenadante se utilizó el método de Folin-Ciocalteu's descrito por Bravo (1998).

El contenido de antocianinas en el sobrenadante se evaluó usando el método del diferencial de pH para antocianinas monoméricas descrito por Giusti & Wrolstad (2001).

Los resultados fueron analizados utilizando el análisis de varianza (anova one way). El test de comparación múltiple se realizó con la prueba LSD con el 95% de confiabilidad.

Con los resultados obtenidos a los 20 y 60 min, de cada enzima, se realizó el análisis factorial 2² (Temperatura x concentración de enzima). Para el análisis estadístico se utilizó el programa Statgraphics plus 5.1.

RESULTADOS

Los resultados se expresan como fracción de polifenoles y antocianinas presentes en el sobrenadante respecto al tiempo cero. Tanto en la pulpa como en la cáscara, durante la incubación con las enzimas, el contenido de antocianinas no fue detectable.

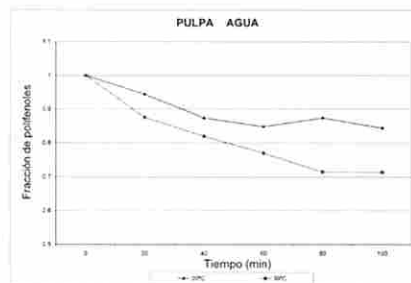


Figura 1. Fracción de polifenoles presentes en el sobrenadante de la pulpa durante la extracción con soluciones acuosas

En la Figura 1, se presenta la variación del contenido de polifenoles utilizando soluciones acuosas, sin enzimas, a 20°C y 30°C. Se observa una disminución del contenido de polifenoles con el transcurso del tiempo y con el aumento de la temperatura. La diferencia es estadísticamente significativa ($p < 0.05$) desde los 60 minutos. Este comportamiento puede deberse a que los polifenoles reaccionaron con el oxígeno del aire.

El contenido de polifenoles presente en el sobrenadante de los procesos de hidrólisis enzimática de la pulpa también descende con el transcurso del tiempo, pero se observa que es mayor que el contenido de los procesos sin utilizar las enzimas. Los resultados indican que las enzimas permiten una mayor extracción de los polifenoles de la pulpa. La liberación de polifenoles mediante enzimas fue observada por Palacios *et al.* (2001), en un estudio de la maceración de vino con enzimas, cuyos contenidos de polifenoles totales fueron superiores hasta un 20% respecto a los procesos en los que no se utilizó enzima. El contenido de polifenoles presentes en el sobrenadante de los procesos de hidrólisis enzimática de la pulpa descende con el transcurso del tiempo. (Fig. 2. y Fig. 3.)

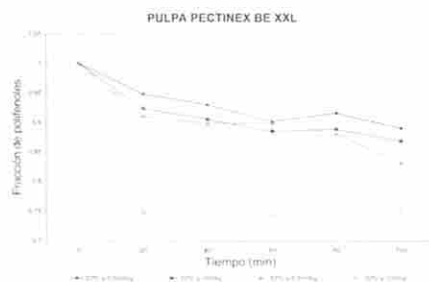


Figura 2. Fracción de polifenoles presentes en el sobrenadante de la pulpa durante la extracción con Pectinex® BE XXL.

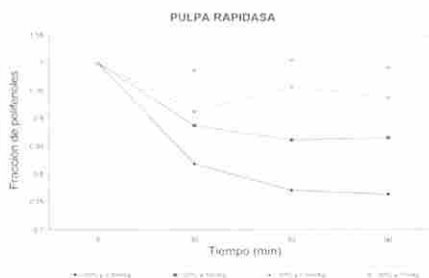


Figura 3. Fracción de polifenoles presentes en el sobrenadante de la pulpa durante la extracción con Rapidasa vegetable juice.

El análisis factorial de los resultados a los 20 min para Pectinex® BE XXL indica que la concentración de enzima y temperatura influyen sobre la extracción de polifenoles y que la temperatura tiene una mayor influencia. Por tanto, se esperaría que a una menor temperatura y baja concentración de enzima el contenido de polifenoles sea mayor. Para Rapidasa vegetable juice, a los 30 minutos, la temperatura y la concentración de enzima tienen influencia sobre el contenido de polifenoles siendo mayor la influencia de la temperatura, por lo que se espera que a una mayor temperatura y concentración de enzima la extracción de polifenoles sea mayor.

Para la extracción de polifenoles y antocianinas de la placenta se utilizó Pectinex® BE XXL y Rapidasa vegetable juice. El contenido de polifenoles del sobrenadante de la placenta, en general, fue mayor que el contenido inicial y no presentó diferencia significativa entre las diferentes condiciones de trabajo y tiempos de incubación. Los mejores resultados se obtuvieron con Rapidasa vegetable juice. (Fig. 4 y Fig 5.)

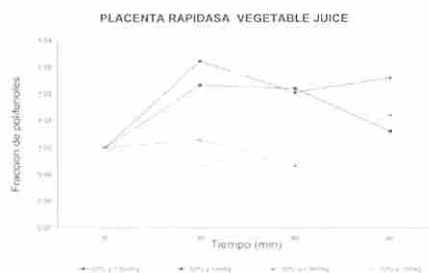


Figura 4. Fracción de polifenoles presentes en el sobrenadante de la placenta durante la extracción con Rapidasa vegetable juice.

El análisis factorial de los resultados a los 30 minutos de hidrólisis enzimática con Rapidasa Vegetable Juice, determinó que tanto la temperatura como la concentración de enzima no influyeron en el contenido de polifenoles y antocianinas del sobrenadante de la placenta.

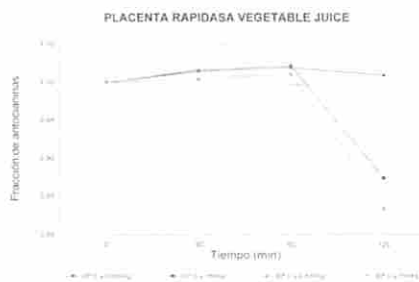


Figura 5. Fracción de antocianinas presentes en el sobrenadante de la placenta durante la extracción con Rapidasa vegetable juice.

Para la extracción de polifenoles de la cáscara se utilizó Pectinex® BE XXL y Rapidasa vegetable juice (Fig. 6.). Estos resultados indican que las enzimas permitieron una mayor extracción de los polifenoles de la cáscara.

El análisis factorial a los 30 minutos para Rapidasa vegetable juice indica que la interacción de la temperatura y concentración de enzima tiene influencia sobre el contenido de polifenoles del sobrenadante de la cáscara, que la influencia de la concentración de enzima es menor mientras que la temperatura no tiene influencia durante el proceso, por lo que se puede trabajar a una baja temperatura y alta concentración de enzima para obtener una mayor concentración de polifenoles.

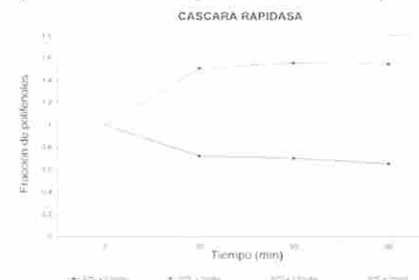


Figura 6. Fracción de polifenoles presentes en el sobrenadante de la cáscara durante la extracción con Rapidasa vegetable juice.

CONCLUSIONES

Las enzimas permiten una mayor extracción de polifenoles de la pulpa, placenta y cáscara del tomate de árbol, por lo tanto pueden ser utilizadas como pretratamiento para la extracción.

La enzima que permitió obtener los contenidos más altos de polifenoles del sobrenadante de la cáscara y placenta del tomate de árbol fue Rapidasa vegetable juice.

Los contenidos más altos de polifenoles del sobrenadante de la pulpa del tomate de árbol se obtuvo con Rapidasa vegetable juice y Pectinex® BE XXL.

En la pulpa el contenido de polifenoles desciende con el transcurso del tiempo de incubación, pero luego de 60 minutos permanece constante.

El contenido de polifenoles de la cáscara con el tratamiento Rapidasa vegetable juice se mantiene constante a partir de los 30 minutos.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue financiado por la Unión Europea Proyecto 6-2003-INCO-DEV-2, contrato 015279

BIBLIOGRAFIA

- Bravo L. 1998. Polyphenols: Chemistry, Dietary sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews* 56(11):317-33.
- Escarpa A, González, M. 2000. Approach to the content of total extractable phenolic compounds from different food samples by comparison of chromatographic and spectrophotometric methods. *Elsevier Science*:119-27.
- Giusti M, Wrostad, R. 2001. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV - Visible Spectroscopy.
- Palacios A, Santiago, I, Guerrand, D. 2001. Utilización de enzimas de maceración en vinificación en tinto. La Rioja: UNIVERSIDAD DE LA RIOJA.
- Tair L, Zenger, E. 1991. *Plant Physiology*. California: The Benjamin Cummings Publishing Company, Inc. 565 p.

AVALIAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DO PERFIL CROMATOGRÁFICO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS OBTIDOS POR PERVAPORAÇÃO DE EXTRATOS SOLÚVEIS DE CAFÉ

Alcilúcia Oliveira¹; Humberto R. Bizzo²; Virgínia M. Matta²; Suely P. Freitas¹; Lourdes M. C. Cabral^{2*}

¹Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro,

²Embrapa Agroindústria de Alimentos, Av. das Américas, 29501, 23020-470, Rio de Janeiro-RJ, Brasil, lcabral@ctaa.embrapa.br.

Palavras chave: pervaporação, café, compostos voláteis, aroma, SPME, CG/EM.

RESUMO

A pervaporação vem sendo considerada uma alternativa à recuperação e concentração de componentes voláteis de matrizes líquidas, pela sua eficiência de separação e, principalmente, por minimizar perdas desses voláteis, uma vez que utiliza temperaturas amenas de processo. O processo de produção de café solúvel pode acarretar perdas significativas na composição de voláteis do produto, influenciando diretamente na qualidade final da bebida. Neste trabalho, o processo de pervaporação foi avaliado para a concentração de aromas de um extrato aquoso de café, fornecido por uma indústria produtora de café solúvel. Utilizou-se um sistema de bancada com membrana polidimetilsiloxano (PDMS) operando em seis diferentes temperaturas, entre 20°C e 45°C. Amostras do processo foram selecionadas para os ensaios cromatográficos. No isolamento dos voláteis das matrizes, utilizou-se a técnica de microextração em fase sólida (SPME) em *headspace*. O aumento de temperatura do processo apresentou um efeito positivo no fluxo permeado. As análises comparativas dos perfis cromatográficos apontaram diferenças significativas entre a alimentação e o permeado, que apresentou um número maior de picos, com intensidades diferenciadas. Observou-se que a temperatura do processo, na faixa estudada, não alterou o perfil cromatográfico das amostras de permeado. Os resultados mostram que o processo de pervaporação é eficiente e pode ser utilizado como alternativa para a concentração e/ou recuperação de aromas do café.

INTRODUÇÃO

A pervaporação é um processo de separação por membranas no qual misturas líquidas são fracionadas devido a sua vaporização parcial através de uma membrana não porosa. Na pervaporação, ao contrário de outros processos com membrana, ocorre mudança de fase, sendo o permeado obtido na fase vapor e recuperado por condensação. Esta técnica tem sido apontada como uma alternativa à recuperação e concentração de compostos orgânicos voláteis de meios líquidos, o que indica a sua potencialidade para a recuperação de componentes de aromas (ASSIS *et al.*, 2007; STARMANS & NIJHUIS, 1996). Este processo apresenta como vantagens aos processos concorrentes a não utilização de solventes tóxicos e a operação em condições amenas de temperatura e pressão. A possibilidade de operar a temperatura ambiente é importante, pois evita a degradação de compostos voláteis, além de diminuir os custos de energia. (BENGTSON *et al.*, 1989).

A bebida de café possui um aroma bastante agradável, o que atrai muitos consumidores. Em 2005, verificou-se um crescimento de 7,9% no consumo de café solúvel, que refletiu diretamente na introdução de diversas inovações no setor, aumentando assim o dinamismo da exportação brasileira deste produto. Para aumentar a venda do café solúvel, as indústrias têm procurado melhorar a sua qualidade aprimorando o processamento como a utilização dos grãos de café robusta de melhor qualidade, a diminuição da perda de

aromas ou ainda a recuperação de aromas acrescentando-os ao produto final.

Este trabalho tem por objetivo avaliar o processo de pervaporação para extrair e concentrar compostos aromáticos provenientes de um extrato aquoso de café.

METODOLOGIA

A matéria-prima utilizada foi o extrato aquoso de café preparado a partir do grão torrado e moído, gentilmente cedido pelas Indústrias Mogi de Café Solúvel, localizada em São Paulo. O extrato foi recolhido imediatamente antes das etapas de concentração e atomização.

Os ensaios no sistema de pervaporação foram efetuados em módulo com membrana densa de Polidimetilsiloxano-PDMS (Velterop – Pervatech®) com área de permeação de 28,3 cm². A diferença de pressão parcial foi garantida pelo uso de uma bomba de vácuo no lado do permeado. O permeado obtido foi recolhido em um condensador imerso em banho de nitrogênio líquido (-196°C). As temperaturas de processamento avaliadas foram 20, 25, 30, 35, 40 e 45°C, mantidas constantes por um banho termostático. Todos os ensaios foram realizados em duplicata.

Os voláteis das amostras foram isolados pela técnica de microextração em fase sólida (SPME) em *headspace*, com fibra de recobrimento Divinilbenzeno-carboxen-PDMS. Para extração utilizou-se 1g de amostra, agitação por 1h e posterior exposição da fibra por 15 min. A dessorção dos voláteis foi realizada através da exposição da fibra no injetor do CG, por 3 min a 40°C. As injeções foram realizadas em triplicata.

As análises cromatográficas foram realizadas na alimentação, no retido e no permeado da pervaporação, obtidos a 25°C, 35°C e 45°C, em um cromatógrafo gasoso (Agilent 6890N), com detector de ionização de chama, coluna HP5. As condições cromatográficas estabelecidas foram: temperaturas do injetor e do detector: 250°C e 280°C, respectivamente; temperatura do forno: 40°C por 3 min, aumentando até 240°C a 3°C.min⁻¹, e 10 min a 240°C; gás de arraste: H₂.

Os compostos voláteis foram identificados pela comparação dos espectros de massas obtidos experimentalmente com os disponíveis no equipamento, na biblioteca da National Institute of Standards and Technology (NIST) versão 2.0 e com base em índices de retenção de compostos já descritos na literatura.

RESULTADOS E DISCUSSÃO.

Como esperado, o aumento da temperatura do processo apresentou um efeito positivo no fluxo permeado. Este aumentou de 0,12 kg/hm² a 20°C para 0,42 kg/hm² na temperatura de 45°C (Figura 1). Nesta faixa, o fluxo permeado variou linearmente com a variação da temperatura. O permeado da pervaporação apresentou um número maior de compostos, com picos e áreas diferentes, devido à concentração dos voláteis (Figura 2).

Foram identificados 107 compostos voláteis no permeado, como **Aldeídos e Álcoois** (acetaldeído, 3-metilbutanal, 2-metilbutanal, furfural, trimetiloxazol, benzaldeído, 5-metil-2-furfural, 2-furanometanol, 2-metil-2-hexenal, heptanal,

3-(2-metilpropil)pirazina, 2-(2-furanilmetil)-5-metilfurano, 1-furfurilpirrol, etc.

Os furanos são oriundos principalmente da degradação de glicídios presentes no café, contribuindo consideravelmente para as características sensoriais do café torrado (DE MARIA *et al.*, 1999).

As pirazinas são compostos característicos de produtos submetidos a tratamento térmico. A 2-etil-3,5-dimetil pirazina é um composto forte no aroma de café, por outro lado, a 2-etil-6-metil pirazina não é considerada como uma substância relevante para o aroma de café (DE MARIA *et al.*, 1999). Estas duas substâncias foram identificadas nas amostras de permeado analisadas. Das pirazinas identificadas, pode-se destacar a 2-6-dimetil-pirazina substância de grande utilidade no monitoramento do grau de torra do café, segundo estudo realizado por HASHIM & CHAVERON (2006).

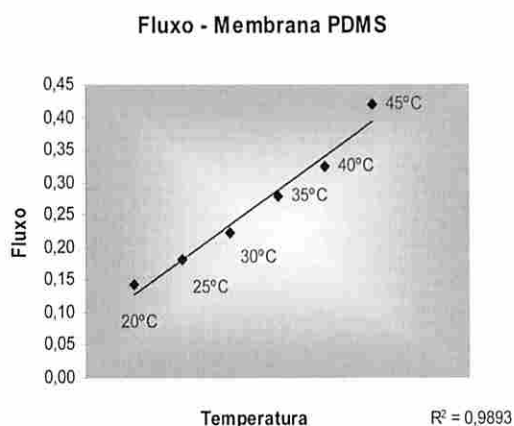


Figura 1. Efeito da temperatura sobre o fluxo permeado no processo de pervaporação de extrato líquido de café.

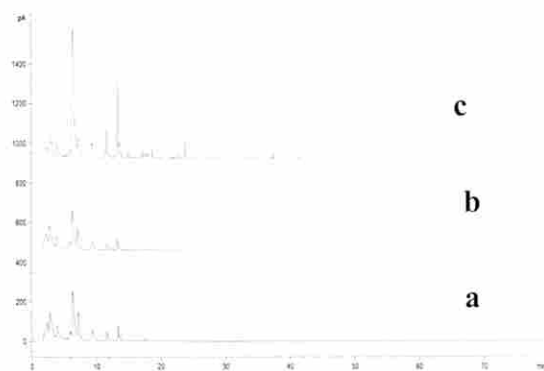


Figura 2. Cromatogramas da (a) alimentação, (b) retido e (c) permeado no processo de pervaporação de extrato líquido de café na temperatura de 45°C.

CONCLUSÕES.

Pelos resultados obtidos neste trabalho pode-se concluir que a pervaporação é uma técnica promissora para a recuperação e fracionamento de aromas. O aumento da temperatura do processo aumentou a eficiência em termos de produtividade, sem alterar o perfil de voláteis dos concentrados aromáticos obtidos.

BIBLIOGRAFIA.

- ASSIS, A.R.; BIZZO, H.R.; MATTA, V.M.; CABRAL, L.M.C. Recuperação e concentração de componentes do aroma de caju (*Anacardium occidentale* L.) por pervaporação. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v.27, n.2, p.349-354, 2007
- BENGTSON, E.; TRÄGÄRDH, G.; HALLSTRÖM, B. Recovery of apple juice aroma compounds by pervaporation. *Journal of Food Eng.* v. 10, p. 65-71, 1989.
- DE MARIA, C.A.B.; TRUGO, L.C.; AQUINO NETO, F.R.; MOREIRA, R.F.A.; ALVIANO, C.S. The CG/MS identification of volatiles formed during the roasting of high molecular mass coffee aroma precursors. *J. Braz. Chem. Soc.* v. 7, p.267-270, 1996.
- HASHIM, L.; CHAVERON, H. Evaluation of sensory attributes of coffee brews from robusta coffee roasted under different conditions. *European Food Research and Technology*, v.224, n.2, p.159-165, 2006.
- STARMANS, D. A. J.; NIJHUIS, H. H. Extration of secondary metabolites from plant material: A review. *Trens in Food Science & Tecnology*, v. 7, p. 191-197, 1996.

APLICACIÓN DE CAMPOS ELECTRICOS PULSADOS PARA INACTIVACION DE POLIFENOLOXIDASA COMERCIAL

Castorena, José Hugo; Robles, Raúl René; Rojas, Marlón; Belti, Jorge; Espinosa, Teodoro; López Erick; Delgado, Raúl.

INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL

CENTRO DE INVESTIGACION EN BIOTECNOLOGIA APLICADA

Ex Hacienda San Juan Molino, Tepetitla.

E-mail: casmin@prodigy.net.mx, rdelator@ipn.mx

TLAXCALA-MÉXICO

Palabras clave: polifenoloxidasas, campos eléctricos, enzima, conservación de alimento

RESUMEN

El propósito del presente trabajo fue desactivar la polifenoloxidasas y encontrar la intensidad de Campo Eléctrico y tiempo del tratamiento críticos, así como evaluar el equipo diseñado. Para ello, se probaron diferente intensidad de Campo Eléctrico Pulsado (CEP), tiempo de exposición y frecuencia del pulso. Encontrando que CEP de 10 kV/cm y por arriba de los tres minutos, se considera condiciones críticas para el tratamiento.

INTRODUCCIÓN

La polifenoloxidasas (EC 1.14.18.1 y EC 1.10.3.2) es una proteína incolora de peso molecular que varía con mayor frecuencia entre 60 a 100 kD y es una metaloenzima que transfiere electrones a través de un cambio en la valencia del Cu catalizando la reacción de oxidación transformando monofenoles a o-difenoles y posteriormente a o-quinonas, las cuales se polimerizan para formar melaninas siendo esta la causa principal del oscurecimiento de tejidos vegetales; por lo que la calidad del producto involucrado se ve afectada, (Meyer, 2006).

Las tecnologías tradicionales utilizadas para desactivar la polifenoloxidasas (PFO) han sido el calor, como agente desnaturante de la proteína y sustancias químicas que actúan como antioxidante o quelantes. Recientemente se ha explorado el uso de los pulsos eléctricos en el tratamiento de esta enzima en extracto de manzana, durazno y pera.

Giner J. y Col., 2001. Evaluaron el grado de inhibición de la polifenoloxidasas de manzana (*Golden delicious var.*) y de pera (*Blanquilla var.*) mediante campos eléctricos pulsados. La actividad de la polifenoloxidasas de los extractos enzimáticos preparados a partir de dichas frutas se redujo significativamente después del tratamiento. Los pulsos eléctricos utilizados fueron generados por un equipo de laboratorio con una forma exponencial decreciente y una anchura de 0.02 ms. La máxima intensidad del campo eléctrico ensayada fue de 24.6 kV/cm. Durante los tratamientos, la temperatura de la muestra nunca superó los 15 °C. se consiguió reducir la actividad polifenoloxidasas inicial de los extractos de manzana y de pera hasta el 3.15% y 38% aplicando intensidades de campo eléctrico de 24.6 y 22.3 kV/cm, respectivamente. En ambos casos el tiempo total de tratamiento fue de 6 ms. La actividad de la enzima en manzana y pera sometida a campos eléctricos pulsados disminuyó siguiendo cinéticas de primer orden. Las constantes cinéticas, estuvieron comprendidas entre los 132 y 440 microsegundos (-1) para la actividad polifenoloxidasas de manzana, y los 26 y 173 microsegundos (-1) para la pera. Las constantes cinéticas variaron exponencialmente con la intensidad del campo eléctrico aplicado. La actividad de la polifenoloxidasas residual, en función de la densidad de energía aplicada, se ajustó a un modelo exponencial decreciente.

Giner S. Y Col., 2002. Evaluó el efecto de los CEP para inactivar la enzima polifenoloxidasas en duraznos en madurez fisiológica de consumo listos para ser procesados como puré en la industria. Las condiciones experimentales fueron: pulso eléctrico en caída exponencial de forma monopolar y bipolar, amplitud del pulso de 0.02 y 0.08 ms, la intensidad del campo eléctrico probado fue en el rango de 2.18 a 24.3 kV/cm. La temperatura de la muestra nunca excedió los 25 °C durante el

tratamiento. Pulsos aplicados en modo bipolar tienden a causar una mayor reducción en la actividad de polifenoloxidasas del durazno. Como resultado se obtuvo una reducción de la actividad enzimática máxima del 70% después de 5 ms usando 0.02 ms de amplitud del pulsos en modo bipolar a una intensidad de campo eléctrico de 24.3 kV/cm. La actividad de la enzima en durazno tratado disminuye siguiendo un modelo de caída exponencial de primer orden.

La aplicación de los CEP tiene la ventaja que su tiempo de aplicación es muy corto y no generan calor. Los CEP son objeto de estudio en muchas universidades y centros de investigación de todo el mundo y han sido utilizados para inactivar microorganismos y enzimas de muchos productos, principalmente líquidos como leches y jugos, favoreciendo los atributos del alimento natural, (Góngora Nieto y col., 2002)

El propósito de este trabajo fue desactivar la polifenoloxidasas y encontrar la intensidad de Campo Eléctrico y tiempo crítico del tratamiento, así como evaluar el equipo diseñado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales.

Enzima Polifenoloxidasas (PFO) extraída de champiñón SIGMA 3,900 unidades/mg sólida. Buffer de fosfato y potasio pH 7.0 comercial. Catecol sólido sigma reactivo analítico pureza 99%.

Métodos

Preparación de muestra

La enzima en polvo fue diluida a 1 mg/ml con el buffer de fosfato y potasio pH 7.0, la cual fue distribuida en viales de 1 ml y almacenada a -75 °C hasta ser utilizado. Finalmente, cada vial fue diluido a 0.01 mg/ml, asegurando que la lectura inicial de absorbancia fuese por arriba de 0.1.

Tratamiento Campo Eléctrico Pulsado (CEP)

Los CEP fueron aplicados a la enzima diluida, en donde los factores de estudio fueron: intensidad del campo eléctrico (kV/cm), tiempo de tratamiento (min) y frecuencia del pulso (hz).

Sistema CEP utilizado.

Se utilizó un sistema diseñado por el Instituto Politécnico Nacional. El cual consta de un generador de alto voltaje variable en el rango de 5 a 70 KV, un modulador de frecuencia en el rango de 5 a 250,00 hz, una cámara de tratamiento en modo estático con electrodos circulares en acero inoxidable.

Reacción

La mezcla de reacción consistió de 3 ml de catecol (5 mM) + 0.2 ml de enzima tratada, se determinó el cambio de absorbancia cada 10 segundos durante 1 minuto a 420 nm, la reacción se realizó a temperatura 25 °C.

Cálculo

Para cada tratamiento se calculó la velocidad de reacción entendiéndose esta como la pendiente de la regresión de la porción lineal. La inhibición de la actividad enzimática debido al tratamiento de calculó como:

$$Efecto = \left(1 - \frac{P_c}{P_o} \right) \times 100$$

$$AR = 100 - Efecto$$

Efecto: % de inhibición de la actividad enzimática, P_c : pendiente de la regresión en la reacción de la PFO después del tratamiento CEP, P_o : pendiente de la regresión en la reacción de la PFO sin tratamiento CEP. AR: La actividad residual de la enzima no afectada.

Análisis estadístico

Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA), se realizó con el System Analysis Statistic (SAS) Ver. 8.1

RESULTADOS

El análisis de varianza del experimento muestra el efecto altamente significativo ($\alpha=0.05$) para los factores de estudio: tiempo, frecuencia y campo eléctrico, así como para los efectos cruzados entre ellos. Se encontró que la intensidad del campo eléctrico fue el factor que más influye en la inhibición de la polifenoloxidaso bajo las características del experimento aplicado, seguido por el tiempo de tratamiento el cual representa el segundo factor en importancia a considerar con mayor influencia, la frecuencia aplicada estadísticamente resultó también altamente significativa aún con la poca importancia que esta representa en la inhibición global de la enzima. Estos resultados coinciden con los reportados en donde la intensidad del campo eléctrico y el tiempo de tratamiento, son los dos factores que más influyen en la inactivación en m.o y enzimas.

Efectos de la intensidad del campo eléctrico

Los niveles de Campo Eléctrico aplicados en promedio inhiben la velocidad de la enzima en 55% para 10 kv/cm y 17% para 8 kv/cm. La figura 1, muestra que las condiciones de campo eléctrico de 8 kv/cm durante los seis minutos de tratamiento no fueron lo suficiente para superar el 50% de inhibición, por lo que no se consideran factores críticos a esos niveles.

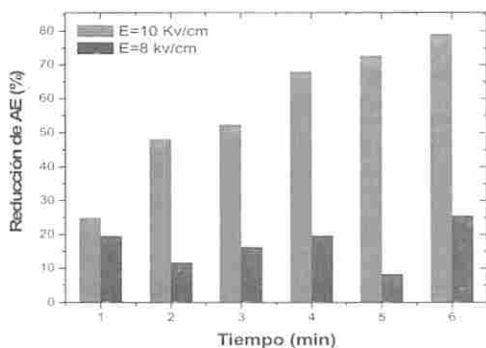


Figura 1. Efecto CEP sobre inhibición de actividad de PFO

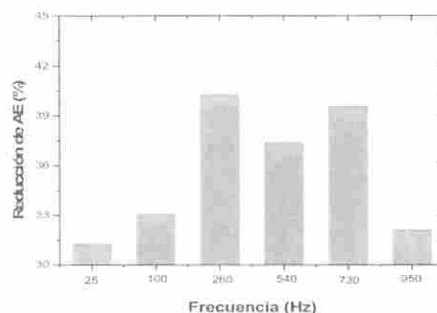
Efectos del tiempo de tratamiento

Se observa que el campo eléctrico crítico (E_c) fue 10 kv/cm y tiempo crítico (t_c) de tres minutos de tratamiento, ya que se obtiene 52% de inactivación de la enzima. Para el factor tiempo se obtuvo que para seis minutos de tratamiento CEP se produjera la mayor inactivación de la enzima, mientras que para el minuto uno la menor como se esperaba. Cada minuto de tratamiento formó un grupo estadísticamente diferente, con la prueba de Tukey.

A cortos tiempos de tratamiento, la relación entre la inactivación y el tiempo de tratamiento es más o menos lineal, mientras que para largos tiempos de tratamiento CEP existe un acelerado incremento en la pendiente de la curva, esto es cierto si se trabaja en condiciones de Campo Eléctrico crítico y tiempo crítico, entendiéndose como las condiciones que produce el 50% de inhibición (Peleg, 1995).

Efecto de la frecuencia del pulso

La frecuencia fue el factor principal que menos contribuyó en la reducción de la actividad enzimática, aunque estadísticamente presentó efecto altamente significativo ($P < 0.01$). Para el factor frecuencia el mayor efecto CEP se obtuvo a 260 hz.



El bajo efecto significativo de este factor se atribuye a que en ensayos previos fue acotado el rango del experimento debido a lo innecesario que era el trabajar por arriba de 1000 hz.

CONCLUSIONES

Es posible desactivar a la polifenoloxidaso y esto depende del tiempo de tratamiento, de la intensidad del campo eléctrico aplicado y de las condiciones de trabajo del sistema utilizado. Se contribuye con un equipo de bajo costo a la gama de sistemas CEP utilizados en el mundo.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Politécnico Nacional, al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y al Gobierno del Estado De Michoacán, por financiar el proyecto a través de los fondos Mixtos.

BIBLIOGRAFIA Y REFERENCIAS

- Giner J., Gimeno V., Barbosa G. Y Matin O. 2001. Effects of pulsed electric field processing on apple and pear polyphenoloxidasos. Food Science and Technology International. Vol. 7, N° 4, 2001, pags. 339-345
- Giner J., Ortega, M., Resegué, M., Gimeno, V., Barbosa-Canovas, G.V. and Martin O., 2002. Inactivation of peach polyphenoloxidaso by exposure to pulsed electric fields. International Journal of Food Science and Technology, Vol. 67, No. 4, Pp 1467-1472.
- Gongora-Nieto, M.M., Sepúlveda, D.R.; Pedrow, P., Barbosa-Canovas, G.V. and Swanson, B.G., 2002. Foods processing by Pulsed Electric Fields: treatment delivery, inactivation level and regulatory aspects. Lebensmittel-Wissenschaft und-technologie/FST, Vol. 35, No. 5, Pp375-388.
- Meyer Alfred. 2006. Polyphenol oxidasos in plants and fungi Going places? A review. Phytochemistry 67: 2318-2331.

CONCENTRACIÓN DE JUGO DE NARANJA POR DESTILACIÓN OSMÓTICA

Castro, Beatriz; Gerla, Patricia; Moreno, Diego y Xavier, Lucía.

DEPARTAMENTO DE OPERACIONES UNITARIAS EN INGENIERÍA QUÍMICA E
INGENIERÍA DE ALIMENTOS.

INSTITUTO DE INGENIERÍA QUÍMICA, FACULTAD DE INGENIERÍA, UNIVERSIDAD DE LA
REPÚBLICA.

E. mail. beatrizc@fing.edu.uy
MONTEVIDEO-URUGUAY

Palabras clave: tecnologías emergentes, destilación osmótica, concentración por membranas, jugos de frutas.

RESUMEN

Se concentró por Destilación Osmótica, a escala banco, jugo de naranja, con resultados que confirman el potencial de esta tecnología emergente, que no aplica calor o presiones altas, para la concentración de alimentos líquidos o productos biológicos en general.

La Destilación Osmótica se realizó con membranas de fibras huecas hidrofóbicas y se estudiaron distintos esquemas para la circulación del jugo a concentrar y de la solución hipertónica

Se obtuvieron concentrados de jugo de naranja con un tenor de sólidos de aproximadamente 45 °Brix. La recuperación de los sólidos totales en los concentrados fue superior al 65% cuando se recirculó el jugo por las fibras y la solución hipertónica por la carcasa del módulo filtrante y descendió al 60% cuando se revirtió esta disposición de corrientes. Dentro de esos porcentajes la recuperación de la actividad antioxidante del jugo de naranja fue cuantitativa y el análisis del contenido en Vitamina C de los diferentes productos mostraron un apreciable aumento de la protección del poder antioxidante en el tiempo, para los jugos de naranja prefiltrados y/o concentrados por membranas.

Se ensayaron diferentes opciones de pretratamiento para el exprimido de naranja que ingresa a la operación de destilación osmótica resultando los tratamientos más adecuados una combinación de micro y ultrafiltración.

En las operaciones de concentración por destilación osmótica el flujo de filtrado, en función del contenido de sólidos en el jugo, siguió un modelo lineal de pendiente muy próxima al eje horizontal y su valor aumentó con el incremento de la velocidad de recirculación de la solución hipertónica y de la temperatura de operación.

Se evidenció al aire como factor fundamental en el aumento de la resistencia a la filtración y una disposición vertical de la membrana con circulación cocorriente hacia arriba de las soluciones resultó exitosa para su eliminación.

INTRODUCCIÓN

La tendencia en la producción de jugos de frutas a nivel internacional, es suplir productos cada vez más saludables, de buen sabor y aroma y a precios competitivos, usando principios de procesamiento que maximicen la preservación de las características sensoriales y nutricionales de la materia prima y posibiliten rápida producción con rendimiento óptimo.

Las ventajas en este sector industrial de filtrar o concentrar con membranas están relacionadas con economía, condiciones de trabajo, calidad del producto y consideraciones ambientales. Usar membranas significa menor requerimiento de energía y menores costos, evitar el polvo y los barrotes de los medios filtrantes y los concomitantes riesgos de salud y costos de tratamiento de desechos, posibilidad de temperaturas de procesos más bajas (reduciendo el daño térmico al alimento) y un diseño más simple del proceso.

Sin embargo cuando se trata de concentrar, los procesos de membranas de mayor desarrollo en la actualidad presentan limitaciones que, a altas concentraciones del producto, obligan a una etapa de evaporación por calor o a reiteradas etapas de ósmosis inversa que exigen altas presiones de operación.

La destilación osmótica es una tecnología emergente basada en la pérdida de agua que experimenta la solución a concentrar cuando, a temperaturas cercanas a la ambiente y a presión

atmosférica, se la pone en contacto a través de una membrana hidrofóbica con una solución hipertónica salina. Este proceso, en el que el agua se evapora del jugo y luego de atravesar la membrana condensa en la solución salina, tiene costos de inversión apreciablemente menores a los requeridos por la evaporación o por la evaporación a vacío.

Trabajos surgidos recientemente sostienen que por destilación osmótica se puede concentrar jugos de frutas hasta valores mayores a 75 °Brix, produciendo concentrados de alta calidad, ya que el producto no es sometido a condiciones térmicas desfavorables en ninguna etapa del proceso de concentración (1). En la destilación osmótica el tamaño del equipo necesario o el tiempo de operación requerido para alcanzar la concentración deseada dependen de las propiedades de la membrana, la temperatura de operación y los flujos, concentraciones y propiedades físicas de la alimentación y de la solución de stripping y a la fecha se ha publicado muy poca información sobre condiciones óptimas de operación que posibiliten aplicaciones industriales.

Este trabajo presenta los métodos utilizados y los resultados que se obtuvieron al concentrar jugo de naranja por destilación osmótica (OD) a escala banco, utilizando una membrana hidrofóbica de fibra hueca. Se analiza el efecto de distintos pretratamientos del jugo de naranja sobre los flujos de filtrado obtenidos en la operación de destilación osmótica y los factores que limitan el grado de concentración del producto final.

MATERIALES Y MÉTODOS

La operación de destilación osmótica se realizó utilizando el equipo esquematizado en la Figura 1. Se realizaron una serie de experiencias variando el pretratamiento del jugo a concentrar, la velocidad de la solución hipertónica y la disposición de flujos de la corriente a concentrar y de la solución hipertónica. Todas las operaciones se condujeron en forma isotérmica y a temperaturas en el rango de la ambiente.

La membrana utilizada fue Hollow Fiber Capsule Filter (Fiberflo), MV-C-30-L, de polipropileno, corte 0,03 µm y área filtrante 2,5 ft². Como se indica en la Figura 1 se utilizaron cuatro manómetros, dos bombas peristálticas, un tanque de 50 litros para la solución de CaCl₂ y uno de 3 lt para el jugo de naranja. Una conexión RS232 a PC desde la balanza OHAUS Adventurer permitió registrar la variación de la masa del jugo de naranja o de la solución hipertónica con el tiempo de operación. La temperatura de operación se controló sumergiendo recipientes con hielo, perfectamente sellados, en el tanque de la solución hipertónica.

El contenido de sólidos totales en los jugos de naranja se determinó por secado en un equipo CEM Microwave Moisture/Solid Analyzer, que cuenta con un sistema de pesada continua con una precisión de décima de miligramo. La viscosidad se determinó con un viscosímetro de orificio SAYBOLT y la Vitamina C por HPLC, con un equipo SHIMADZU Class VP, y columna PHENOMENEX SPHEREX 10 NH2 (fase móvil Acetonitrilo- sol NH₄H₂PO₄). El pH de los jugos se determinó con un equipo Cole-Parmer 8350-series pH Data logger y la actividad de agua de los jugos y de la solución hipertónica con un equipo Aqualab CX2 T.

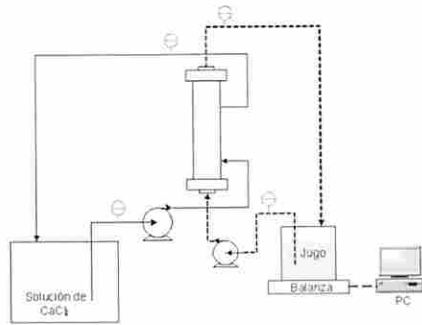


Figura 1: Equipo utilizado para la Destilación Osmótica.

La materia prima fue el exprimido de naranja antes de ingresar a las etapas de clarificación. Se estudió el pretratamiento más adecuado de esta corriente desde el punto de vista de los flujos obtenidos tanto en el pretratamiento como en la concentración por DO. Las opciones ensayadas fueron: decantación, microfiltración, ultrafiltración y combinaciones de micro y ultrafiltración.

Se estudió también la variación del flujo de filtrado con la variación de la temperatura de operación en un rango cercano a la temperatura ambiente y con la velocidad de la solución hipertónica. En todas las experiencias realizadas el jugo de naranja se bombeó a la membrana a una velocidad de 5.4 l/h. Las velocidades a las que se bombeó la solución hipertónica, así como otras especificidades de cada experiencia se indican en cada caso en la presentación de los resultados. Durante las experiencias de concentración fueron relevados datos de potenciales y flujos los cuales permitieron identificar las resistencias controlantes y modelar el flujo de filtrado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Flujos de filtrado y recuperación de los solutos del jugo de naranja en los concentrados

Experiencia A: Se concentró 2.1 veces 600 ml del sobrenadante de un jugo de naranja comercial (12,9% en ST) decantado a 10°C durante 60 horas. El sobrenadante fue bombeado a las fibras y la solución hipertónica a la carcasa (Figural) en un esquema contracorriente con el módulo filtrante colocado horizontal. La velocidad de la solución hipertónica cuyo contenido en sólidos totales fue de 31.5% y 28% al inicio y al final de la corrida respectivamente, se varió en forma creciente. El contenido en sólidos totales del jugo concentrado fue de 22.3% (82% de recuperación). Los valores de flujos de filtrado registrados durante la operación fueron apreciablemente menores a los reportados en la literatura para aplicaciones similares (2) y aumentaron con el incremento de la velocidad de la solución hipertónica (Figura 2).

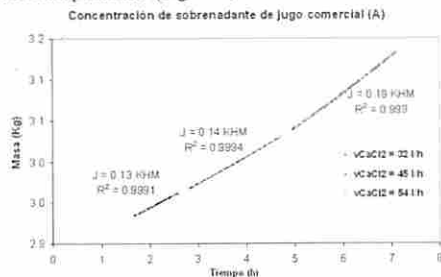


Figura 2: Destilación osmótica de jugo de naranja.

Experiencia B: Fue la continuación de la experiencia anterior, la cual se suspendió debido a los bajos valores de los flujos de filtrado obtenidos. Se cambió la posición de la membrana (Figura 1) colocándola vertical. Esto se hizo para favorecer la salida del aire ocluido en las soluciones circulantes y que parece ser uno de los factores claves en el decrecimiento del flujo de filtrado durante la concentración por OD. Se descartó la posibilidad de desairear previamente a las soluciones, por los arrastres de aromas y la pérdidas de vitamina C que se producirían en el jugo de naranja y porque en el caso de la solución hipertónica implicaría una operación de pretratamiento que encarecería en forma importante la operación industrial

Por lo tanto la membrana se colocó vertical, adoptándose una disposición de flujos en cocorriente hacia arriba. La solución hipertónica fue bombeada a razón de 54 l/h y se logró, como se indica en la Figura 3 una duplicación del flujo de eliminación de agua con respecto a la Experiencia A.

Se concentró 2 veces el producto final de la Experiencia A (22,3% en ST), y el contenido en sólidos totales del jugo concentrado fue de 37,6%, lo que significa una recuperación de sólidos totales en el concentrado del orden de 84%.

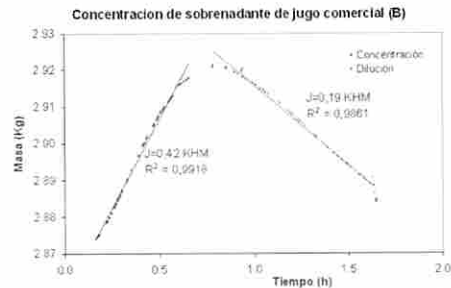


Figura 3: Destilación Osmótica de jugo de naranja

Como se observa en la Figura 3 durante la OD se produjo reversión del flujo de agua que pasó de la solución salina al jugo de naranja.

Muestras intermedias de jugo de naranja, a los 36 y 106 min de iniciada la experiencia mostraron un contenido en sólidos totales de 40,5 % y 39,6 % respectivamente.

A la temperatura de operación, (22°C), el jugo de naranja con un contenido de sólidos del 40.5 % presentaba una actividad de agua de 0.69 y la solución hipertónica con un contenido de sólidos totales sobre el final de la operación de 31% una actividad de agua de 0.62.

Una primera lectura de estos valores, sumada a la disminución en el contenido de sólidos totales del jugo de naranja durante la concentración, indicaba la posibilidad de reversión del potencial en la operación. Sin embargo un análisis de la actividad de agua del jugo de naranja en función de su contenido en sólidos descarta esta posibilidad porque en el rango de temperaturas de trabajo es imposible que el jugo a concentrar (Figura 4) alcance valores de actividad de agua muy inferiores a 0.9.

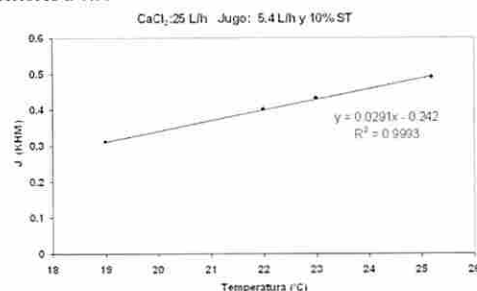


Figura 4: Actividad de Agua (aw) del jugo de naranja en función del contenido de sólidos totales a 25°C

Por lo tanto postulamos que la reversión de flujo no fue debida a una reversión del potencial sino a una ruptura de la membrana que determinó la mezcla de las dos soluciones. Esta hipótesis fue confirmada mediante la realización de una nueva experiencia de concentración en las mismas condiciones de la experiencia anterior salvo por un pretratamiento más estricto del jugo a concentrar.

Experiencia C: Para esta operación de destilación osmótica se montó una nueva membranas MV-C-030-L FIBERFLO y se tomaron dos medidas precautorias para prevenir su rotura: se utilizó como materia prima jugo de naranja comercial con muy bajo contenido de pulpa el cual se pretrató como lo indica la Figuz 5 y se trabajó a una velocidad baja de la solución hipertónica (32 l/h)

El producto a concentrar fue bombeado a las fibras y la solución hipertónica a la carcasa en un esquema cocorriente con el módulo filtrante horizontal. El contenido en sólidos totales del jugo que entró a la etapa de concentración fue de 12.33% y su actividad de agua, (aw), de 0.986.

El volumen de solución hipertónica utilizado en esta experiencia fue de 50 l y frente al volumen inicial de jugo de naranja a concentrar (1018.6 g) se puede asumir la constancia en el valor de los sólidos totales de la solución hipertónica durante toda la operación (38.33% y $a_w=0.525$). El jugo de naranja se concentró 5,2 vez en peso y su tenor en sólidos totales resultó ser de 42.05%, lo que muestra una recuperación de sólidos del orden del 66 %. Una muestra de jugo de naranja tomada a un factor de concentración de 2.6, con un tenor de sólidos totales de 21.56% indicó el mismo porcentaje de recuperación. El flujo de filtrado fue de 0.5 KHM, (Figura 5).

Experiencia D: Dos operaciones de concentración se realizaron en las mismas condiciones de la Experiencia C, salvo que se usó exprimido de naranja fresco, pretratado según se indica, obteniéndose resultados reproducibles desde el punto de vista de los flujos (Figura 5) y de la recuperación en sólidos totales que fue del 67% y del 66% respectivamente en las dos operaciones. El jugo de naranja en ambos casos se concentró 5 veces, obteniéndose una concentración de sólidos totales del 44%. Ambas operaciones de destilación osmóticas fueron finalizadas cuando se observó que la masa de jugo de naranja registrada por la balanza comenzaba a ascender.

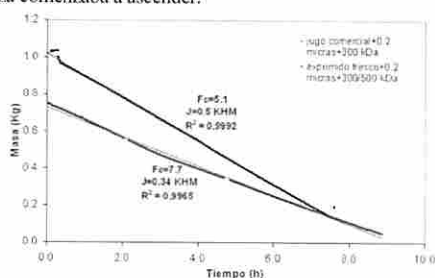


Figura 5: Destilación Osmótica de jugo de naranja

Experiencia E: Se alimentó el exprimido fresco de jugo de naranja pretratado, a la carcasa del módulo filtrante y la solución hipertónica a las fibras. Esto se hizo para determinar si esta disposición permitiría flujos de eliminación de agua mayores a los obtenidos en las operaciones anteriores. Las velocidades de circulación de ambas soluciones fueron iguales a las utilizadas en las dos experiencias anteriores, circulando en cocorriente y el módulo filtrante vertical. El jugo de naranja se concentró 6 veces en masa y los sólidos totales se concentraron desde 9.82% a 35.22 % lo que determina un porcentaje de recuperación del 60%. El flujo de eliminación de agua fue de 0.5 KHM.

Dependencia del flujo de filtrado con la temperatura de operación: La Figura 6 presenta los resultados obtenidos al concentrar jugo de naranja por destilación osmótica a distintas temperaturas y en un esquema isotérmico.

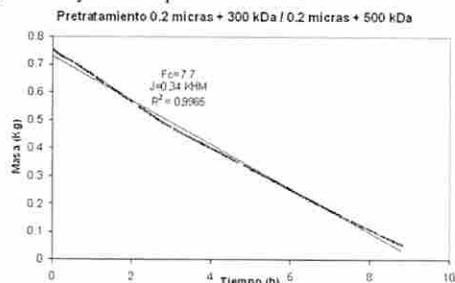


Figura 6: Flujos de filtrado vs. temperatura de operación en la destilación osmótica del jugo de naranja

Tabla I. Propiedades físicas de jugos y concentrados

Descripción del Producto	Contenido en A. Acetico	Recuperación Sólidos Solubles (ST) %	Recuperación A. Acetico en ST %
Jugo Comercial con conservante	414.4		
Jugo Comercial con conservante (10 días a 19°C)	201.9		
Jugo Pretratado (20 días a 19°C)	430.3		
Concentrado 1.6 veces (10 días a 19°C)	445.3	95	100
Exprimido fresco	306.2		
Exprimido fresco (30 días a 19°C)	192.3		
Jugo Pretratado (30 días a 19°C)	297.4		
Concentrado 5.1 veces (30 días a 19°C)	1133.9	96	98
Exprimido fresco	302		
Exprimido fresco (15 días a 19°C)	252.4		
Jugo Pretratado (15 días a 19°C)	306.5		
Concentrado 7.7 veces (15 días a 19°C)	613.6	67	94
Exprimido fresco	421.6		
Exprimido fresco (4 días a 19°C)	422.5		
Jugo Pretratado (4 días a 19°C)	301.4		
Concentrado 6 veces (4 días a 19°C)	1536.6	80	96

Propiedades de los concentrados obtenidos: Los resultados obtenidos se resumen a continuación en la Tabla 1 y en la Figura 7.

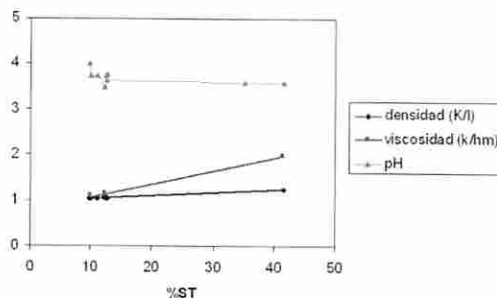


Figura 7: Propiedades físicas de jugo de naranja y concentrados

CONCLUSIONES

En este trabajo el jugo de naranja se concentró por Destilación Osmótica hasta aproximadamente 45% en sólidos totales y las condiciones muy favorables de temperatura y presión de operación permitieron la recuperación cuantitativa de la actividad antioxidante. Por otro lado los análisis del contenido en Vitamina C de los diferentes productos muestran un apreciable aumento de la protección del poder antioxidante en el tiempo de los jugos de naranja filtrados o concentrados por membranas. Esta conclusión apunta a anteriores indicaciones (3). La recuperación de los solutos del jugo fue superior al 65% cuando se recirculó el jugo por las fibras y la solución hipertónica por la carcasa del módulo filtrante y descendió al 60% cuando se revirtió esta disposición de corrientes.

La membrana a utilizar en este proceso debe ser de naturaleza suficientemente hidrofóbica para asegurar un ángulo de contacto que impida su humidificación y un punto de burbuja mayor al de la membrana utilizada en este trabajo para poder lograr tenores de solutos mayores al 45 %.

Los flujos de filtrado obtenidos fueron del orden de los informados en la literatura y aumentan linealmente con el incremento de la temperatura de operación, aunque no conviene superar los 25°C, temperatura a la cual se acelera el deterioro del producto. El pretratamiento más adecuado para el exprimido de naranja que ingresa a la operación de destilación osmótica resultó ser en este trabajo una combinación de micro y ultrafiltración (0.2 micras +300 o 500 kDa).

En todas las operaciones de concentración el flujo de filtrado, en función del contenido de solutos en el jugo (tiempo de operación), siguió un modelo lineal de pendiente muy próxima al eje horizontal, con valores independientes de la circulación del jugo por las fibras o la carcasa y que aumentó con el incremento de la velocidad de la solución hipertónica.

Se evidenció al aire como factor fundamental en el aumento de la resistencia a la filtración y la disposición vertical de la membrana con circulación cocorriente hacia arriba de las dos soluciones resultó exitosa para la eliminación del aire.

AGRADECIMIENTOS

A la Sra. Sandra Hermida del Servicio de Análisis del Instituto de Ingeniería Química de la Facultad de Ingeniería, por planificar y realizar las determinaciones de Vitamina C.

A la Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC) de la Universidad de la República (Uruguay) por financiar esta investigación.

REFERENCIAS

- Jiao, B., Cassano, A. and Drioli, E. 2004. "Recent advances on membrane processes for the concentration of fruit juices: a review". J. Food Eng. 63: 303-324
- Bui, V.A., Nguyen, M.H. and Muller, J. 2004. "A laboratory study on glucose concentration by osmotic distillation in hollow fibre module". J. Food Eng. 63: 237-245.
- Castro, B.N. y Gerla, P.E. 2005. "Pasteurization of orange juice by membranes filtration". Proc. ENPROMER.C4-P-2.

CONSERVACIÓN DE SALSA MEXICANA POR PULSOS ELÉCTRICOS DE ALTA INTENSIDAD DE CAMPO

Juárez Goiz, José Mayolo¹, Ramos Pacheco, Juana Miriam², Pérez Gámez, Maribel³, Zamora Bonilla, Azucena⁴ y Bautista Pérez Simeón⁵.

^{1,5}Profesor- Investigador del Instituto Tecnológico de Celaya, Gto. Av. Tecnológico y Antonio García Cubas, AP. 57, CP 38010, México; e-mail: jmayolo@itc.mx, bautista@itc.mx; ^{2,3,4} Tesistas de licenciatura en Ingeniería Bioquímica en alimentos

Palabras Clave: PEAI, chile verde, oleoresina, salsa mexicana

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de los pulsos eléctricos de alta intensidad de campo (PEAI) en dos salsas Mexicanas. Se seleccionaron los niveles de tiempo de 20 y 40s y con intensidades de 9kVA y 12kVA como experimentos iniciales y como variables respuesta: el pH, la acidez titulable, vitamina C, y firmeza de los componentes, así como su efecto en los microorganismos mesófilos aerobios, coliformes fecales, hongos y levaduras de las salsas "molida y pico de gallo", ambas sin cocimiento.

Se determinó que los PEA1 y la dosificación de oleoresina de chile, fueron efectivos en ambas salsas, observándose una inactivación del 100% en la flora microbiana presente; en mesófilos aerobios, mohos y levaduras se presentó crecimiento después de 30 días de almacenamiento a temperatura ambiente y de refrigeración.

Las propiedades fisicoquímicas de pH, acidez titulable y vitamina C, el efecto no fue significativo; Situación que se mantuvo hasta los 45 días de almacenadas las salsas, tanto en refrigeración como en congelación. Las pruebas de fluidez por extrusión reversa y firmeza por punción, mostraron que la "salsa molida", con una resistencia a fluir de 6.5N a 0 días de almacenamiento, disminuyó a 4.5N a los 8 días, equivalente a un 30% menos de resistencia a fluir, la punción de cebolla tomada como control de los ingredientes presentes en la salsa "pico de gallo" registró 5.5N a 0 días de almacenamiento, disminuyó drásticamente a los 8 días a 1.0N, equivalente a una pérdida de firmeza del 82%; registrándose a los 30 días del experimento una pérdida total de fluidez y punción de ambas salsas, sin embargo la apariencia, el sabor y el color fueron de una salsa recién elaborada.

INTRODUCCIÓN

México, a nivel mundial, es el tercer productor de chile verde (*Capsicum annuum*) (Salazar-Olivo, y Silva-Ortega, 2004) sin embargo, no es competitivo en su producción y comercialización de salsas, chiles enlatados y oleoresina de *Capsicum*.

La salsa mexicana es un aderezo de la comida mexicana e internacional y su consumo se ha incrementado debido al picor y sabor que proporciona a los alimentos preparados (mexconnect.com, 2005), su estabilidad fisicoquímica y eliminación microbiológica es función del tratamiento térmico y el uso de conservadores, con la subsiguiente modificación de la apariencia, color y un sabor intenso a cocido.

Una tecnología de vanguardia, que se considera viable y efectiva para destruir la flora microbiana en las salsas mexicana es la de Pulsos Eléctricos de Alta Intensidad de Campo (PEAI) (Zhang, *et al.*, (1995a, Quin, *et al.*, 1995b, Barbosa-Cánovas, *et al.*, 1999).

El procesado con PEA1 involucra la aplicación de pulsos de alto voltaje (regularmente entre 10 y 80 kV/cm) a alimentos colocados entre 2 electrodos. El tratamiento PEFs conduce a los alimentos a un ambiente en donde la temperatura se incrementa solo un poco más de la ambiente, por lo que las pérdidas o daños por calor son mínimos.

Los atributos de calidad de la tecnología de PEA1, son considerados superiores a los tradicionales tratamientos térmicos de alimentos por que estos evitan o reducen grandemente las transformaciones perjudiciales de las

propiedades sensoriales y físicas de los alimentos (Quass, 1997).

Aunque algunos estudios han concluido que los PEA1 preservan los componentes nutrimentales de los alimentos, el efecto de PEA1 en los aspectos químicos y nutritivos de los alimentos, debe ser más estudiado antes de utilizarlo en el procesado de los alimentos (Qin, *et al.*, 1995b).

Algunos aspectos importantes en la tecnología de pulsos eléctricos son la generación de campos de alta intensidad eléctrica, el diseño de cámaras que impartan de forma uniforme el tratamiento a los alimentos con el mínimo de incremento en la temperatura y el diseño de electrodos que minimicen el efecto de la electrolisis.

La amplia intensidad de campo se logra a través de almacenar una gran cantidad de energía en un banco de capacitores (condensadores) o serie de capacitores de un suministro de energía, que es luego descargado en la forma de pulsos de alto voltaje (Zhang, *et al.*, 1995).

Estudios en requerimientos de energía han concluido que PEA1, es un proceso que utiliza más eficientemente la energía comparado con la pasteurización térmica, particularmente cuando el sistema es usado de forma continua (Qin, *et al.*, 1995).

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

El chile serrano, jitomate y cebolla principales ingredientes de las salsas fueron seleccionados respecto a su apariencia y sin daño aparente en su superficie, se limpiaron de material extraño, se lavaron con agua potable, y se procedió a la preparación de las salsas "pico de gallo y molida".

Para la preparación de la "salsa pico de gallo" se fraccionaron cada uno de los ingredientes en unidades de 7mm aproximadamente. Se dividieron en dos lotes para la adición de la oleoresina de 15,000 y 100,000 Unidades Scoville de Pungencia (USP), respectivamente.

Cada lote se etiquetó como salsa con pungencia baja y alta; se envasaron en bolsas de 7x6cm con cierre hermético y con una capacidad de envase de 250g, al realizar esta operación se formó una jugosidad propia de la deshidratación del jitomate y la cebolla principalmente, lo cual al momento de realizar esta operación facilitó la eliminación de burbujas de aire en la bolsa de empaque.

La elaboración de la salsa "molida" se realizó mezclando los ingredientes en partes proporcionales a la formulación, enseguida se aplicó una trituración de aproximadamente 3 min para lograr una mezcla gruesa, pero uniforme de los ingredientes, se procedió a la adición de la oleoresina en las concentraciones utilizadas en la salsa "pico de gallo", de manera similar se dividió la salsa "molida" en dos lotes, se envasaron, se sellaron y etiquetaron los envases como "salsa molida" con baja y alta pungencia, respectivamente.

Inmediatamente se realizó el tratamiento a 9 y 12kVA con tiempos de 20 y 40s, se almacenó un lote de pico de gallo y otro de salsa molida en refrigeración (5±2C) y los otros dos lotes se dejaron a temperatura ambiente (25±3C) durante un periodo de 45 días.

El pH, contenido de ácido Ascórbico y acidez titulable se midieron por los métodos oficiales (AOAC, 1990). Los análisis microbiológicos fueron realizados de acuerdo a la NOM mexicana para: Mesófilos en placa, NOM-092-SSA1-

1994, Mohos y Levaduras NOM-111-SSA1-1994. Coliformes totales y fecales por la NOM-181-SSA-1998, a los tiempos de 0, 8, 15, 30 y 45 días de almacenamiento, la firmeza y fluidez por extrusión reversa, se midieron con el equipo Texture Expert Exceed, Stable Micro Systems, TA.X2i y la apariencia, sabor y color se evaluó como aceptación o rechazo por el consumidor.

El tratamiento preliminar con el equipo de PEA1, diseñado, construido, ensamblado y calibrado en los laboratorios de Ingeniería electrónica del Instituto Tecnológico de Celaya, Guanajuato, México, consistió en someter a las muestras de salsa empacadas con y sin oleoresina a una intensidad de 9 y 12 kVA por 20 y 40s. Las muestras se almacenaron inmediatamente para su estudio.

RESULTADOS

El Cuadro 1 muestra que la adición de oleoresina indistintamente de la concentración y el periodo de almacenamiento no modificaron el pH, los contenidos de ácido cítrico y ácido ascórbico de ambas salsas y como se deduce de los resultados solo se presentaron cambios de pH en las muestras de salsas almacenadas en condiciones de temperatura de 25C ±3 o ambientales.

Cuadro 1. Análisis fisicoquímico de salsas molida y pico de gallo

Tiempo de almacén Formulaciones*	0	8	15	30
Salsa molida refrigerada:				
Acidez (% Cítrico)				
Ácido ascórbico (mg)	0.087	0.087	0.090	0.090
pH	48.50	48.50	48.50	49.00
	4.83	4.83	4.83	4.83
Salsa pico de gallo refrigerada:				
Acidez (% Cítrico)				
Ácido ascórbico (mg)	0.087	0.087	0.090	0.090
pH	48.50	48.50	48.50	49.00
	4.83	4.83	4.83	4.83
Salsas temperatura ambiente:				
Ac. (% Cítrico)				
Ácido ascórbico (mg)	0.087	0.087	0.095	0.098
pH	48.50	48.50	48.70	49.00
	4.83	4.90	4.97	5.50

El Cuadro 2 muestra que la adición intencionada de oleoresina a las formulaciones experimentales, no modificó la carga microbiana de ambas salsas y como se observa la mayor población la representan los mesófilos y los coliformes fecales.

Cuadro 2. Análisis microbiológico de la salsa sin tratamiento.

Microorganismos	Salsa Molida (UFC/g)			Salsa picada (UFC/g)		
	Flora inicial			Flora inicial		
	sin oleo	15ml USP	100ml USP	sin oleo	15ml USP	100ml USP
Mesófilos	61	37	34	46	35	35
Mohos	1	2	1	1	1	1
Coliformes fecales (t/MP)	23	25	25	27	27	23
Levaduras	7	5	5	6	5	5

El Cuadro 3 registra la respuesta al tratamiento de los PEA1 de las salsas "molida y pico de gallo" con pungencia de 15,000 y 100,000 USP, las cuales mantienen cuentas cero hasta los 30 días, a los 45 días aparecen colonias de mesófilos y de hongos a 25C y de levaduras a 5±2C y los coliformes fecales se mantuvieron en cero, que concuerda con los resultados de las pruebas realizadas por Zhang, *et al.*, (1995a), Qin, *et al.*,(1995b), Barbosa-Cánovas *et al.* (1999)

Cuadro 3. Análisis microbiológico de las salsas tratadas

Condiciones experimentales	Muestras en ambiente				Muestras refrigeradas			
	Pungencia baja (15ml USP)				Pungencia alta (100ml USP)			
	Tiempo (días)							
Microorganismos	0	15	30	45	0	15	30	45
	Mesófilos aerobios	0	0	0	9	0	0	0
	0	0	0	2	0	0	0	0
Hongos (UFC/g)	0	0	0	1	0	0	0	4
	0	0	0	0	0	0	0	1
Levaduras (UFC/g)	0	0	0	6	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	2
Coliformes fecales (t/MP)	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0
Testigo	25	40	60	80	25	40	60	80

La Figura 1 registra la consistencia de la salsa molida al ser sometida a la prueba de extrusión reversa, observándose que la mayor resistencia a fluir de la salsa (6.5N) se presentó a los cero días, hasta un mínimo de 0.5N a los 30 días de almacenamiento, comportamiento que indica una pérdida del 92% de consistencia y como consecuencia una pérdida de resistencia a fluir, sin que por ello indique una disminución de su aporte nutrimental.

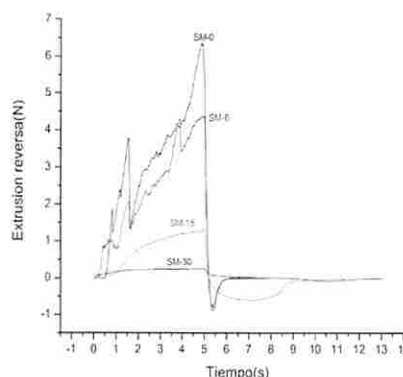


Figura 1. Fluidez de la salsa molida durante el almacenamiento

El seguimiento de los cambio de firmeza para la salsa "pico de gallo" se realizó midiendo la firmeza de las fracciones de cebolla, el jitomate y el chile, principales ingredientes de esta salsa, y como se observa en la Figura 1, la firmeza de la cebolla sufre los mayores cambios en su firmeza, pasando de una firmeza inicial de 5.5N de resistencia a la punción a los cero días de almacenamiento a 1.0N a los 30 días de almacenamiento (Fig. 2).

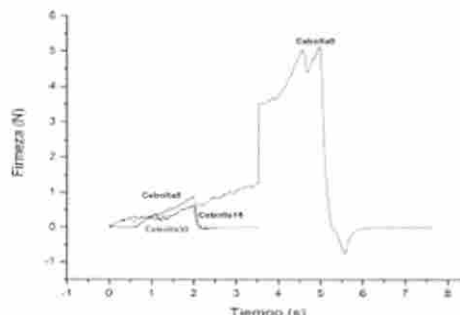


Figura 2. Medición de firmeza de las fracciones de cebolla componentes de la salsa pico de gallo.

La Figura 3 únicamente registra los resultados de firmeza del jitomate a cero y 8 días de almacenamiento, debido a que fue el ingrediente que prácticamente perdió en un 100 % su firmeza al no poder evaluarla a los 15 días, componente que está limitando a 8 días de vida de anaquel de la salsa pico de gallo, reto que debe solucionarse en primera instancia para aumentar la vida media de esta formulación. Debe de aclararse que la pérdida de firmeza del jitomate no afectó el color, aroma, y sabor del producto, resultado de la respuesta de aceptación de los 25 individuos no entrenados, que probaron y aceptaron la salsa "pico de gallo".

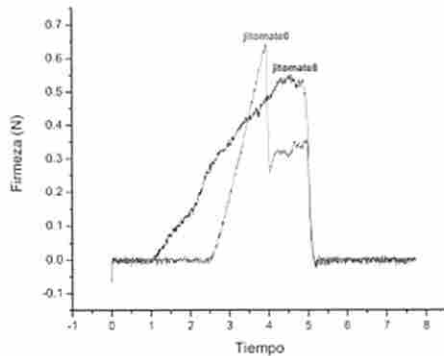


Figura 3. Medición de firmeza de las fracciones de jitomate presente en la salsa pico de gallo.

En la Figura 4 se observa el comportamiento de las fracciones de chile, tercer componente de la salsa "pico de gallo" y como se puede deducir en esta figura, es el ingrediente que presentó la mejor estabilidad respecto a su firmeza, ya que a los 8 días perdió el 37% de su firmeza inicial que contrasta con el de la cebolla que en este mismo periodo de almacenamiento perdió el 82%.

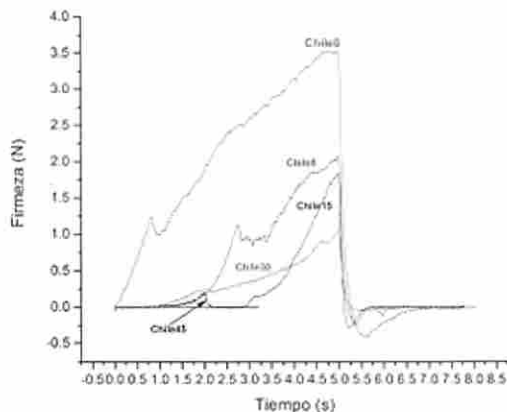


Figura 4. Medición de la firmeza de las fracciones de chile presentes en la salsa pico de gallo

CONCLUSIONES

El tratamiento con los PEAI (9, 12kV y 20, 40s) fueron efectivos en un 99.99%, en la inactivación de la población microbiana presente hasta los 30 días, tanto en las muestras almacenadas al medio ambiente como en refrigeración, sin embargo; a los 45 días hubo crecimiento en las muestras almacenadas a temperatura ambiente de 9 UFC/g de mesófilos, 1UFC/g de mohos y 6 UFC/g de levaduras, así como 2 UFC/g de mesófilos en refrigeración en las muestras formuladas con pungencia baja. Por otra parte las muestras almacenadas en refrigeración con pungencia baja presentaron 2 UFC/g de mesófilos y 4 UFC/g

de mohos, respecto a las muestras almacenadas en refrigeración y pungencia alta, solamente hubo 1 UFC/g de mohos y 2 UFC/g de levaduras, por lo que se considera que la refrigeración incrementó la eficacia de los PEAI así como la concentración alta de oleoresina (100mil USP); como la oleoresina contiene capsaicinoides y de acuerdo a Dorantes, *et al.*, (2000) quienes demostraron que tiene efectos inhibitorios contra patógenos, esto permite afirmar que la oleoresina adicionada en las salsas presentó este efecto inhibitorio.

Como se dedujo del Cuadro 1 las características fisicoquímicas de pH, acidez titulable y ácido ascórbico, no se vieron afectados por el tratamiento con los PEAI, ni la adición de oleoresina, resultado que concuerda con Quass *et al.*,(1997).

Aunque los cambios de fluidez de la salsa molida evaluada por extrusión reversa, fue de un 30% a los 8 días, de un 82% a los 15 días y de un 100% entre los 15 y los 30 días, sus apariencia, sabor y olor fueron la de una salsa recién elaborada.

No obstante que la salsa pico de gallo fue la que presentó los cambios más drásticos en la firmeza de la cebolla y el jitomate, su apariencia, sabor y color también fueron la de una salsa recién elaborada.

Finalmente se concluye que los resultados obtenidos en la aplicación de los PEAI, con la adición intencionada de oleoresina en las salsas mexicanas abre una nueva línea de productos derivados del chile verde prácticamente libres de microorganismos, sin cambios en sus componentes sus nutrimentos, con apariencia fresca y potencialmente escalable a nivel industrial.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Tecnológico de Celaya, Gto. por las facilidades brindadas para el desarrollo satisfactorio de esta proyecto.

Al comité evaluador de los Fondos Mixtos SAGARPA - CONACYT - COFUPRO, 2003- e01- 190/B-1 por el apoyo financiero.

BIBLIOGRAFIA Y REFERENCIAS

- AOAC Official Methods of Analysis, 15th ed. Arlington, VA Association of Official Analytical Chemists, 1990.
- Barbosa-Cánovas, G. V., Gongora-Nieto, M. M., Pothakamury, U. R., Swanson, B.G. 1999. Preservation of foods with pulsed electric fields. 1-9, 76-107, 108-155. Academic Press Ltd. London
- Dorantes, L., Colmenero, R., Hernández, H. Mota, L. Jaramillo, ME. Fernández E. and Lozano. C. 2000. Inhibition of growth of some foodborne pathogenic bacteria by *Capsicum annum* Int. J. Food Microbiol. 57 (1-2): 125-128.
- Manual for texture analysis. 2004. Texture Expert Exceed, Stable Micro Systems, Vienna Court, Lammas Godalming, Surrey GU 1YL, UK.
- Qin, B., Pothakamury, U. R., Vega, H., Martin, O., Barbosa-Cánovas, G. V. and Swanson, B. G. 1995b. Food pasteurization using high intensity pulsed electric fields. J Food Technol. 49(12):55-60Quin, 1995b
- Quass, D. W. 1997. Pulsed electric field processing in the food industry. A status report on PEF. Palo Alto, CA. Electric Power Research Institute. CR-109742.
- Salazar-Olivo, L. A. y Silva-Ortega, C. O. 2004. Efectos Farmacológicos de la Capsaicina, el principio pungente del chile. Biología Scripta 1 (1). pp 7-14, IPICiT, San Luis Potosí, México.
- Swanson, B. 1999. Preservation of foods with pulsed electric fields. 1-9, 76-107, 108-155. Academic Press Ltd. London.
- Zhang, Q. H., Qin, B.-L., Barbosa-Cánovas, G. V. and Swanson, B. G. 1995a. Inactivation of *E. coli* for food pasteurization by high-strength pulsed electric fields. J Food Process Preserv. 19(2):103-118
- www.mexconnect.com. 2005.

COMPARACIÓN DEL ÍNDICE GLUCÉMICO DE PANQUÉ HORNEADO EN MICROONDAS Y CONVENCIONALMENTE

María Elena Sánchez-Pardo, Alicia Ortiz-Moreno y Rosalva Mora-Escobedo
 INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
 ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
 DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA
 Plan de Ayala y Carpio. Col. Sto. Tomás, Delegación Miguel Hidalgo CP 11340.
 México, D. F. 57296000 EXT. 62473.

Palabras clave: Digestibilidad, gelatinización, índice glucémico, microondas, almidón

RESUMEN

Se comparó el efecto del proceso de panificación (horno de microondas y convencional) en la biodisponibilidad del almidón presente en la miga del panqué fresco y almacenado durante ocho días. Se evaluó el almidón resistente (AR), el almidón retrogradado (AR3) y el índice de hidrólisis del almidón (IH) de los productos. La predicción del índice glucémico (pIG) se obtuvo usando la fórmula empírica sugerida por Granfeldt. La selección del panqué se hizo con base a su alta producción industrial en México y a que su elevado contenido de humedad y grasa pueden reducir los defectos de calidad del horneado con microondas. Los resultados mostraron diferencias entre el panqué elaborado convencionalmente y en horno de microondas en los parámetros de humedad, AR y AR3. Para los productos convencionales con ocho días de almacenamiento a temperatura ambiente se presentó un incremento significativo en el AR3, mientras que en los panqués horneados en microondas no se encontraron cambios en AR. Los valores del IH para el producto recientemente elaborado en horno de microondas y almacenado fueron 59% y 62% respectivamente, sin diferencias significativas; mientras que los valores del IH para el producto convencional presentaron diferencias significativas después de ocho días de almacenamiento a temperatura de 20-22 °C.

INTRODUCCIÓN

La interacción de las microondas con las masas panificables depende de las características dieléctricas de sus ingredientes. El agua es el componente más importante, aunque la sal, la grasa y la proteína también actúan como componentes dieléctricos. Las proteínas como macromoléculas complejas, tienen generalmente numerosos radicales polares y/o cargados, que se pueden afectar por el campo eléctrico de la microonda Sumnu y Sahin (2005). Aunque la energía de la microonda puede ser insuficiente para interrumpir enlaces covalentes, es factible interrumpir los enlaces no covalentes. Así, el efecto de las microondas en los componentes del alimento como las proteínas y almidón puede ser más pronunciado, inmediato y específico que el mecanismo del calentamiento convencional. Hoy en día, el uso del horno de microondas en la industria es limitado, Schiffmann (2001).

Sin embargo, la comprensión apropiada de los cambios del almidón durante el horneado empleando microondas podía reducir defectos de calidad en productos leudados. Teniendo las ventajas de un proceso que ofrece menor tiempo de horneado, ahorro de energía y productos con mejor calidad nutritiva Sumnu y Sahin (2005). Hasta hace varias décadas, el almidón había sido considerado un carbohidrato disponible, que se digiere y también se absorbe totalmente en el intestino delgado. Sin embargo, el nivel de digestión en el intestino delgado determina sus características fisiológicas, las que dependen de tres factores principales: su estado físico original como grano entero, pulverizado o dispersado (AR1, almidón físicamente inaccesible); la naturaleza de la forma cristalina en el gránulo y la relación de amilosa-amilopectina (AR2, almidón de gránulos nativos); cualquier efecto del procesamiento de los alimentos que haya conducido a la retrogradación, tal como cocinado y refrigeración de alimentos

ricos en almidón (AR3). Estas fracciones se denominan almidón resistente (AR) y se define como la suma de almidón y de los productos de la degradación del almidón no absorbidos en el intestino delgado de los individuos sanos. Asp (1992) y Englyst et al (1992).

El almidón resistente tiene un reducido contenido calórico y se ha relacionado con diversas funciones fisiológicas y metabólicas como fibra dietética, Delcours y Eerlinger (1996). Los almidones resistentes no se digieren en el intestino delgado y son fermentados por la microflora bacteriana en el intestino grueso, teniendo diversos efectos en la salud, e.g., reducción de las respuestas glicémica e insulínica al alimento, acción hipocolesterolemia y efectos protectores contra el cáncer colorectal, Jiménez y Sánchez (2000).

El índice y el grado de la digestión del almidón es un factor importante para controlar la glucosa en sangre y la insulina. Estudios numerosos se han realizado para determinar la respuesta de la concentración de glucosa en sangre después de haber consumido un alimento. Tovar et al (1999).

En este trabajo se eligió el panqué como producto de estudio porque representa el 7% de industria total de la producción del pan en México (pan salado y dulce) y también representa uno de los seis panes dulces más consumidos en este país, Wolever y Miller (1995).

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación del panqué. La mantequilla y el azúcar fueron mezcladas por 10 minutos en el nivel 2 de velocidad en un mezclador eléctrico modelo K5SS Kitchen-aid. Se adicionó la harina, el huevo fresco entero, la levadura del polvo, el cloruro de sodio y el extracto de la vainilla para hacer la mezcla. Después de 30 minutos de mezclar, se colocaron 110 + 0.1g de la pasta en moldes refractarios de forma de cono truncada invertida (diámetro superior de 10.5 cm, diámetro inferior de 7.5 cm, correspondiendo a 310 cm³) y se sometió a cocción en un horno de microondas Agudo-Carrusel de R-530ES en 240 Watts por cinco minutos. El panqué convencional, fue preparado y moldeado con el mismo procedimiento, pero cocido a 180 °C por 40 min en un horno de columpios Henrio Simon, Cheshire. Los panqués fueron almacenados en bolsas de papel dentro de un envase plástico a temperatura ambiente (20-22°C) para ser analizados en su contenido de humedad, AR total, AR3, índice de hidrólisis y la predicción del índice glucémico, a los 0, 2, 4, 6, y 8 días de almacenamiento.

Digestibilidad in Vitro. El almidón resistente total fue determinado por triplicado según el método descrito, Goñi et al (1996); Tovar (2001), AR3 fue determinado por el método de Saura-Calixto, (2003). El índice de la hidrólisis del almidón *in vitro* fue determinado con el protocolo desarrollado por Granfeldt y otros (1992). La predicción del índice glucémico fue calculado usando valores del HI, con la fórmula sugerida por Granfeldt y otros (1994). La predicción del índice glucémico se calculó a través de la ecuación $(0.862 \cdot HI + 8.198)$, para el cual el coeficiente de correlación (r) fue 0.026 ($P \leq 0.00001$). Se hizo el análisis estadístico usando la versión 2.0 del Sigma Stat.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se encontró diferencia estadística ($P>0.05$) en el contenido de agua en el panqué recién horneado en microondas y después de ocho días de almacenamiento, mientras que la humedad del producto convencional, disminuyó linealmente a partir de 23.11 hasta 16.41 g/100g en el mismo período. Esta disminución de humedad se puede considerar que se reguló por la corteza formada durante el proceso de panificación convencional, Sumnu y Sahin (2005). El contenido de AR en la miga del panqué de horno de microondas fue 4.4% y estadísticamente diferente ($P\leq 0.05$) del contenido de AR de la miga del panqué convencional de 3.6% (Tabla 2). Esta diferencia en contenido de AR se atribuyó a que las microondas producen una entrada rápida de la energía de microondas en el centro de los productos, originando una pérdida substancial de agua por evaporación a través del producto, que no tienen equivalente en ninguna otra forma de cocinar, de acuerdo con lo informado por Wilson y otros (2002), y aunque se alcanza la temperatura requerida para cocer al alimento, la gelatinización completa del almidón no se realiza en las muestras cocidas por microondas debido a la interacción limitada del almidón-agua durante el período corto de la calentamiento de microondas, Hegenbert (1992).

Tabla 1 Almidón Resistente Total y Resistente Retrogradado en panqué recientemente horneado^{1/} y almacenado (g/100 g de muestra seca).^{2/}

Almacena namiento (días)	Almidón Resistente Total		Almidón Resistente Retrogradado	
	Microonda	Convencional	Microondas	Convencional
0	4.44±0.09 ^a	3.58±0.01 ^b	1.11±0.12 ^a	1.45±0.11 ^a
2	4.02±0.03 ^a	3.81±0.38 ^b	1.01±0.31 ^a	1.44±0.14 ^a
4	4.17±0.15 ^a	3.79±0.27 ^b	1.21±0.21 ^a	1.40±0.21 ^a
6	4.59±0.08 ^a	3.81±0.12 ^b	1.20±0.21 ^a	1.53±0.17 ^a
8	4.62±0.08 ^a	3.95±0.04 ^b	1.20±0.18 ^a	1.61±0.11 ^b

^{1/} Almacenamiento a temperatura de (20-22) °C.

^{2/} Los resultados son el promedio de tres repeticiones ± error estándar.

Análisis estadístico para humedad, almidón resistente total, resistente retrogradado en ambas muestras. Letras diferentes que están en la misma fila y columna representan diferencia significativa de acuerdo con la prueba de Student-Newman-Keuls a un nivel de confianza de 95% [$p\leq 0.05$].

El índice de la hidrólisis del almidón en productos horneados con microondas fue más bajo estadísticamente, en comparación con el convencional, tanto en los recién horneados como en los almacenados ocho días. Los porcentajes de la hidrólisis del almidón de panqué se muestran en Tabla 2. El pan blanco usado como referencia mostró un valor de la digestión del 55.06% después de 180 minutos, que coincide con los valores divulgados, Sáyago y otros (2005). La hidrólisis fue más lenta para el panqué horneado en microondas que para el panqué convencional (el 59% y el 81% después de 180 minutos, respectivamente).

Tabla 2. Índice de Hidrólisis (IH) y Predicción del Índice Glucémico (pIG) de panqué horneado en microondas y convencionalmente^{1/}

ALMACENAMIENTO (días)	IH ^{2/} (%)	pIG ^{3/}
Microondas		
0	59.09 ± 5.71 ^a	59.13
8	61.85 ± 5.03 ^a	61.52
Convencional		
0	80.88 ± 5.43 ^b	77.92
8	68.1 ± 6.77 ^c	66.9

^{1/} Los datos son medias de seis personas masticadoras de las muestras, con evaluaciones de diálisis por triplicado ± SD n=6. Los promedios seguidos por diferentes letras son significativamente diferentes ($p<0.05$). ^{2/} Índice de Hidrólisis (IH) fue comparado con pan blanco. ^{3/} Predicción de índice glucémico pIG = 0.862 (IH) + 8.198

No se encontró ninguna diferencia significativa ($P>0.05$) en el HI en el panqué cocido en microondas después de ocho días del almacenamiento (59.09 a 61.85), mientras que una diferencia significativa ($P<0.05$) fue encontrada en panqué convencional después de ocho días de almacenamiento a temperatura ambiente (a partir el 80.88 a 68.1).

Una explicación de la diferencia del grado de hidrólisis del almidón es la presencia de las proteínas, que pueden formar un complejo proteína-almidón con diferentes características, lo cual no se firma en el horno convencional, lo que influirá en el índice de hidrólisis del almidón. Los radicales polares y/o cargados presentes en proteínas (no presentes en moléculas del almidón), son afectados por los componentes eléctricos del campo de microondas, Hoseney (1994). Aunque la energía de las microondas puede ser escasa para interrumpir enlaces covalentes, es factible interrumpir los enlaces no covalentes. Otro factor que explica el bajo índice de hidrólisis del almidón del panqué de microondas, se relaciona con la microestructura de la matriz de la miga, Sánchez et al, (2007).

En las figuras 1 y 2 se representa el grado de hidrólisis del almidón de panqué hecho en horno de microondas y convencional.

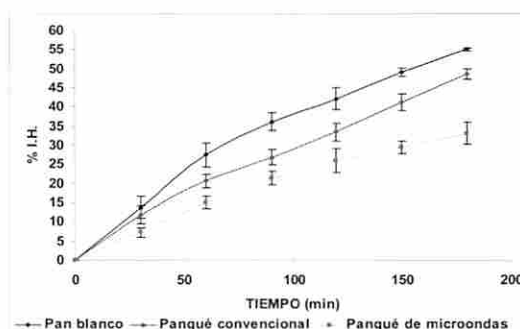


Figura 1. Grado de Hidrólisis del almidón de miga de panqué de microondas y convencional a los 0 días de almacenamiento.

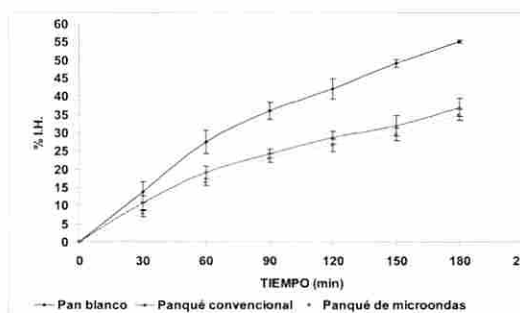


Figura 2. Grado de Hidrólisis del almidón de miga de panqué de microondas y convencional a los ocho días de almacenamiento.

A partir de las curvas de la hidrólisis se calculó el pGI que se presenta en la Tabla 3. El cambio de la humedad durante el almacenamiento del panqué convencional, parece tener una influencia importante en la hidrólisis del almidón. El pGI del panqué recién horneado en microondas fue 59.13 que corresponde a los alimentos con índice Glucémico bajo y el pGI del panqué convencional fue 77.92 corresponde a un alimento con índice Glucémico medio, Noriega (2004).

Estos resultados coinciden con los valores divulgados por Foster (2002), quienes indicaron que el índice glucémico para el panqué convencional fue de 77 ± 8, mientras que en el determinado por la técnica indicada fue de 78 ± 2.

CONCLUSIONES.

El proceso de panadería que incluyó un horneado en microondas influyó en el contenido de humedad, en la concentración de las fracciones de almidón resistente tipo 2 y tipo 3, así como en el grado de hidrólisis del almidón, lo que en conjunto disminuyó el valor del índice glucémico en el panqué elaborado en horno de microondas.

Las masas cuya formulación tiene un alto contenido de grasa, azúcar y humedad, presentan alto potencial para se horneadas en microondas y continuar con características de panificación adecuadas.

RECONOCIMIENTOS

Este trabajo fue desarrollado dentro del proyecto del SIP 20050437, financiado por el Secretaría de Investigación y Posgrado del Instituto Politécnico Nacional (IPN) México.

REFERENCIAS

Asp NG (1992) Resistant starch. Proceedings from the second plenary meeting of EURESTA. Eur J Clin Nutr 46: (Suppl 2)S1.

Björck IM, Granfeldt Y, Liljeborg H, Tovar J and Asp NG (1994) Food properties affecting the digestion and absorption of carbohydrates. Am J Clin Nutr 59:699S-705S.

Delcour JA, Eerlinger RC (1996) Analytical implication of the classification of resistant starch as dietary fiber. Cereal Foods World 41: 85-86.

Englyst HN, Kingman SM and Cummings JH (1992) Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. Eur J Clin Nutr 46 (Suppl.2) S33-S50.

Helmar Schubert and Marc Regier. CRC Press. Woodhead Publishing Limited. Cambridge, England.

Foster-Powell K, Holt SHA, Brand-Miller C (2002) International table of glycemic index and glycemic load values: 2002. Am J Clin Nutr 76:5-56.

Goñi I, García DL, Mañas E and Saura CF (1996) Analysis of resistant starch: a method for foods and food products. Food Chem 56: 445-449.

Granfeldt Y (1994) Foods factors affecting metabolic responses to cereal products. Ph. D. Dissertation, University of Lund, Sweden. Pp. 27-29.

Granfeldt Y Björck I, Drews A and Tovar J (1992) An *in vitro* method based on chewing to predict metabolic responses to starch in cereal and legumes products. Eur J Clin Nutr 46:649-660.

Hegenbert S (1992) Microwave quality: coming of age. Food Product Design, 17:29-52.

Hoseney RC (1994) Principles of cereal. Science and Technology. American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul MN 55121-2097, USA. Chapter 3. Pp. 65-79.

Jiménez-Escrig A, Sánchez-Muñiz FJ (2000) Dietary fibre, from edible seaweeds: Chemical structure, physicochemical properties and effects on cholesterol metabolism. Nutr Res 20:585-598.

Noriega E (2004) El índice glucémico. Cuadernos de Nutrición. 27(3):117-124.

Sánchez-Pardo ME, Ortiz-Moreno A, Mora-Escobedo R, Chanona-Pérez JJ, Necochea-Mondragón H (2007) Comparison of crumb microstructure from pound cakes baked in a microwave or conventional oven. Lebensm Wiss Technol <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2007.05.003>

Sáyago ASG, Tovar J, Osorio DP, Paredes LO and Bello PLA (2005) In vitro starch digestibility and predicted glycemic index of corn tortilla, black beans and tortilla-bean mixture: effect of cold storage. J Agric Food Chem 53:1281-1285.

Schiffmann RF (2001) Microwaves processes for the food industry. (pp. 299-337) in Datta A. K. and Anantheswaran R. C. Handbook of microwave technology for food applications. Marcel Dekker, New York.

Sumnu G and Sahin S (2005) The microwave processing of foods. Chapter 7. Baking using microwave processing. Edited by Helmar Shubert and Marc Regier, CRC Press. Woodhead Publishing Limited. Cambridge, England.

Tovar J, Herrera E, Laurentin A, Melito, C, Pérez E (1999) In vitro digestibility of modified starches, in Recent Research Advances in Agricultural and Food Chemistry Vol. 3 (Ed. S. G. Pandalai) Research Signpost, Trivandrum. pp 1-10.

Wilson WD, MacKinnon IM, Jarvis MC (2002) Transfer of heat and moisture during microwave baking of potatoes. J Sci Food Agric 82:1070-1073. On line 2002. DOI. 1002-1020/ljsfa1129.

Wolever TMS, and Miller JB (1995) Sugars and blood glucose control. Am J Clin Nutr 62(Suppl. 1): 2125-2275.

ESTUDIO COMPARATIVO DEL PROCESO DE FREIDO Y VAPOR SOBRECALENTADO/FREIDO EN PLACAS DE POLLO EMPANIZADAS.

Rosete Hidalgo J.¹, Cenkowski S.², Sosa Morales M.E.¹ y Vélez-Ruiz J.F.¹

1) Dep. de Ing. Química y Alimentos, Universidad de las Américas, Puebla, Cholula, 72820 Puebla, México; 2) Department of Biosystems Engineering, University of Manitoba, Winnipeg, MB R3T 5V6, Canada.

e-mail: jorgef.velez@udlap.mx

Palabras clave: freído, aplicación de vapor, pollo empanizado, absorción de grasa, pérdida de humedad

RESUMEN

En este estudio se presentan datos referentes a la transferencia de masa y calor, propiedades termofísicas, atributos de calidad y características sensoriales de placas de pollo empanizadas fritas, pre-tratadas con inyección de vapor sobrecalentado y se comparan con las placas de pollo fritas únicamente, determinando si existe efecto del pre-tratamiento en la absorción de grasa y en otras características.

La caracterización de la materia prima y el estudio del proceso de freído convencional se realizaron para determinar las condiciones de los sistemas de estudio. La temperatura y el tiempo adecuados para el freído de placas con respecto a sus características físicas, de calidad y a su contenido de humedad y grasa fueron 160°C durante 3 minutos. El contenido de grasa final en el empanizado frito fue de 23.95%; el coeficiente difusional efectivo (para pérdida de humedad) calculado fue de $1.66 \times 10^{-8} \text{ m}^2/\text{s}$, mientras que el coeficiente convectivo de transferencia de calor fue 98-108 $\text{W}/\text{m}^2 \text{ }^\circ\text{C}$. Las placas de pollo empanizadas fueron tratadas con inyección de vapor sobrecalentado, variando temperatura y tiempo de proceso: 110 y 140°C con 3, 5 y 8 minutos de tratamiento. El flujo de vapor y la presión se mantuvieron constantes, con un freído a 160°C, excepto las placas tratadas 8 min a 140°C. Estas placas, tratadas con inyección de vapor, absorbieron una mayor humedad en el pollo y en el empanizado que las placas sin pre-tratar.

El contenido de grasa en el pollo y en el empanizado de las placas tratadas con inyección de vapor sobrecalentado resultó significativamente menor que el de las placas control. Se observó que a mayor temperatura de vapor sobrecalentado, hubo mayor absorción de grasa durante el proceso de freído, posiblemente debido a la formación de poros de mayor tamaño. Las condiciones de inyección a 110°C durante 5 minutos, absorbieron menor cantidad de grasa en el empanizado (7.27 ± 1.62%).

No hubo efecto del pre-tratamiento en la densidad. El parámetro L de luminosidad de los sistemas fue significativamente mayor que el de las placas control. Aún las placas pre-tratadas con un tiempo prolongado, no presentaron diferencia significativa en la textura. Se observó que a pesar de tener un menor contenido de grasa en el pollo pre-tratado con vapor, los atributos de calidad cambiaron significativamente con respecto a las placas fritas.

Actualmente, se requiere de mayor información sobre los beneficios y limitantes que puede proporcionar la combinación de métodos sobre las propiedades físicas y de calidad de los alimentos fritos, con el objetivo de reducir su contenido de grasa al final del proceso.

INTRODUCCIÓN

El proceso de freído es una de las técnicas más antiguas en la preparación de alimentos. En México y en muchos países del mundo, se consume una cantidad importante de alimentos fritos debido a sus características deseables, tanto físicas como sensoriales. Industrialmente se pueden encontrar productos fritos tales como papa, tostadas, verduras, productos de panadería y carne, entre otros.

Sin embargo, debido a la preocupación de los consumidores por las enfermedades cardiovasculares y la obesidad, la tendencia al consumo de productos con bajo contenido en grasa se ha incrementado. Es por ello, que las empresas se han preocupado por utilizar técnicas de procesamiento que disminuyan el

contenido de grasa de los alimentos fritos. Inclusive, se ha recurrido al proceso de horneado y tratamiento con aire seco para sustituir al freído, pero las características sensoriales y de calidad de estos productos cambian y no cumplen con las expectativas de los consumidores en general.

La combinación de métodos para conservar y preparar alimentos se ha ido implementando y estudiando, con el objetivo de obtener productos de mejor calidad, de menor costo, saludables y que mantengan las características físicas y sensoriales similares al producto original. Se han publicado estudios sobre la combinación de freído y algún otro proceso para disminuir el contenido de grasa, mejorar el sabor, el color y las características físicas del producto final. Un ejemplo es el freído de papa a vacío, en el cual hay menor absorción de aceite, así como mejor color y textura que en papas fritas por inmersión (Garayo y Moreira, 2002). También se han utilizado los procesos de horneado y calentamiento dinámico radiante como método de cocción final de papas a la francesa, obteniendo una textura diferente a las papas tradicionales (Lloyd et al., 2004). La aplicación de vapor sobrecalentado sobre alimentos que se consumen fritos se ha empezado a estudiar, poniendo particular atención a la calidad del producto y a su textura. Se han aplicado flujos de vapor sobrecalentado por inyección a diferentes temperaturas sobre tortillas y papa para disminuir su contenido de grasa. Moreira et al. (1999) han observado que el vapor sobrecalentado a condiciones específicas, es un medio de calentamiento que tiene como característica proporcionar al alimento una textura crujiente. Sin embargo, información referente a la aplicación de inyección de vapor sobrecalentado como tratamiento térmico adicional al proceso de freído de alimentos es mínima. No se conoce lo suficiente acerca de los efectos que pueda tener sobre las características físicas y sensoriales del alimento a diferentes condiciones. Por ello, se considera importante comparar la textura, el color, el sabor y las propiedades de transferencia de calor y masa de un alimento frito (nuggets de pollo) pre-tratado con vapor sobrecalentado por inyección y el tratado únicamente por freído; teniendo como expectativas conocer algunos beneficios y limitantes que proporcionan estos tratamientos sobre el producto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de muestra

Se utilizó pechuga de pollo fresca sin piel y deshuesada obtenidas en supermercados de las ciudades de Puebla y Manitoba. La pechuga se cortó en placas pequeñas con dimensiones de 5 cm de largo, 3 cm de ancho y 1 cm de espesor. Se empanizaron siguiendo un procedimiento normalizado, se escurrieron 3 segundos y se colocaron en charolas con aluminio.

Equipo de freído

Se utilizaron dos freidoras comerciales con resistencia eléctrica, de 2 L de capacidad (Taurus Mexicana, México y Proctor-Silex modelo 35015C), con una relación mástica de 1:12 pollo: aceite (diez placas aproximadamente). El aceite se precalentó a temperaturas de 140 y 160 °C.

Se colocaron diez placas empanizadas en una rejilla y se frieron durante 4 minutos en aceite de girasol a 140°C, y 3 minutos a 160 °C. Luego de transcurrido el tiempo de freído se escurrieron durante 30 segundos y se colocaron en papel absorbente durante un minuto. Posteriormente se colocaron en

charolas para enfriarse al ambiente durante 20 minutos, y se colocaron en bolsas de plástico.

Proceso de Inyección de Vapor Sobrecalentado

Se utilizó un equipo de inyección de vapor sobrecalentado construido en el Depto. de Ingeniería de Biosistemas de la Universidad de Manitoba. Se colocó en una celda con una malla de 12 cm de diámetro, cada placa de pechuga de pollo empanizada dentro de la cámara de inyección y se aplicaron las temperaturas de 110 y 140 °C durante 3 y 5 minutos, a una presión de 5 kPa dentro de la cámara y con un flujo másico de vapor de 11.23 kg/h. Después se retiró la placa, se enfrió al ambiente (6 min) y se almacenó en una bolsa de plástico.

Determinación de Temperaturas

Se utilizaron termopares tipo J, T y K insertados en el centro de las placas de pollo empanizadas y conectados a un termómetro digital. Se realizaron lecturas por duplicado de la temperatura del centro de la placa de pollo cada 1 y 15 segundos durante el proceso de freído.

Determinación de Humedad

Se determinó por diferencia de peso en una estufa a 110 °C por 24 horas según el método 7.003 (AOAC, 1995).

Determinación de Grasa

En Cholula, se determinó el contenido de grasa de la placa de pollo, así como del empanizado únicamente durante cada minuto del tiempo de freído. Se determinó por duplicado por extracción utilizando éter de petróleo como solvente durante 6-7 horas, y pesando la grasa colectada basándose en el método de Soxhlet (Vélez et al., 2002). Mientras que en Winnipeg, se determinó por duplicado por extracción utilizando éter de petróleo como solvente durante 78 minutos en el equipo Soxtec TM modelo 2050 marca Foss (Tecator Technology) y pesando la grasa colectada.

Determinación de Propiedades Termofísicas

Se determinó la densidad aparente por la relación entre el peso de la muestra y el volumen desplazado de semillas de canola dentro de un medidor de volumen, calibrado con tres diferentes esferas de metal con diámetro conocido. O bien, se calculó la densidad aparente de las placas de pollo empanizadas durante cada minuto del proceso de freído a 160 °C, midiendo las dimensiones de la placa y el peso. Se determinó la conductividad térmica de las placas de pollo por medio del equipo Thermal Properties Analyzer (Decagon Devices, Inc. Pullman, WA). La conductividad térmica fue medida para cada minuto del proceso de freído a 140 y 160°C de las placas de pollo empanizadas fritas en Cholula, Puebla.

Determinación de Atributos de Calidad

La textura, se determinó con una prueba de penetración del 15% del grosor de la placa a una velocidad de 5 mm/s y utilizando una aguja de 1/8 de pulgada en Cholula (Sosa et al., 2006) y de 2 mm en Winnipeg. Se usó un analizador de textura TA.TX2 (Textura Technologies, Corp., Scardale, NY) en forma manual. Los resultados se hicieron por triplicado y son expresados como fuerza en el sistema internacional, los resultados se hicieron por triplicado.

Determinación de Color

Se midió el color del exterior de las placas de pollo empanizadas por reflectancia con un colorímetro Color Gard System-05 (BYK Gardner) en Cholula, y por medio un colorímetro Chroma Meter CR-400 (Minolta) en Winnipeg, usando los parámetros L, a, b en la escala de Hunter. Se calibró el instrumento usando dos placas de mármol estandarizadas, una negra y otra blanca (L=92.89, a=-1.05 y b=0.82). La diferencia de cambio neto se calculó por la relación:

$$\Delta E = \sqrt{(L - L_0)^2 + (a - a_0)^2 + (b - b_0)^2} \tag{1}$$

Modelación Matemática

Transferencia de masa: El coeficiente de difusión efectivo en el proceso de freído (De) se evaluó por medio de la solución de Newman a partir de la segunda ley de Fick para placas infinitas en forma de una ecuación de concentración-tiempo-espacio. Se

consideró la resistencia de superficie despreciable (Vélez et al., 2002), y un solo término de la serie.

$$\frac{w - c_1}{c_0 - c_1} = \frac{8}{\pi^2} \left[\exp\left(-\frac{\pi^2 Dvt}{4a^2}\right) + \frac{1}{9} \exp\left(-\frac{9\pi^2 Dvt}{4a^2}\right) + \frac{1}{25} \exp\left(-\frac{25\pi^2 Dvt}{4a^2}\right) + \dots \right] \tag{2}$$

Donde: w es el contenido de humedad al tiempo t, c₁ es el contenido de humedad superficial la cual es la humedad del empanizado al tiempo t, c₀ es el contenido de humedad al tiempo t-l y a es la mitad del espesor de la placa.

Se consideró la humedad superficial en el tiempo t como la humedad del empanizado a dicho tiempo.

Transferencia de Calor: el coeficiente superficial de transferencia de calor entre la placa y el aceite se evaluó por la ecuación de Newton: $Q = A_s h \Delta T$ (3)

La ecuación anterior puede ser resuelta de la siguiente manera (Rahman, 1995):

$$\frac{T - T_e}{T_0 - T_e} = \exp\left(-\frac{hA_s t}{mC_p}\right) \tag{4}$$

Donde Q es la energía neta ganada por la placa de pollo empanizada, A_s es el área superficial, h es el coeficiente convectivo de transferencia de calor y ΔT es el gradiente de temperatura que se da entre la temperatura del medio de calentamiento y la temperatura de la superficie de la placa. Para obtener el área superficial de las placas se utilizó la siguiente fórmula, $A_s = 2 \times [L \cdot a + a \cdot b] + 2 \cdot L \cdot b$, con a siendo el ancho, L el largo y Δx el espesor, T_e es la temperatura de equilibrio, T₀ es la temperatura inicial, T es la temperatura al tiempo t, m es la masa de la placa y C_p es el calor específico.

Si se grafica el logaritmo natural de la relación de temperaturas con respecto al tiempo, a partir de la pendiente de la línea se obtiene el coeficiente convectivo de transferencia de calor.

Análisis Sensorial

Se llevó a cabo la prueba sensorial afectiva para evaluar, el color, la textura, el sabor y la aceptabilidad general de las placas de pollo empanizadas fritas pre-tratadas con inyección de vapor sobrecalentado a una temperatura y un tiempo, utilizando una escala hedónica de 9 puntos (donde 9 = me gusta muchísimo y 1 = me disgusta muchísimo). Realizaron las pruebas 7 jueces no entrenados, en Manitoba y 15 jueces no entrenados en Puebla.

Análisis Estadístico

Para el análisis de los datos se aplicó ANOVA con un software estadístico (Minitab Release 14, Minitab Inc, State Collage, PA). Se calculó la desviación estándar y se evaluó la significancia al 95% de confianza por comparación de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de Placas en el Freído

Se midieron las dimensiones de las placas y se pesaron antes y después del proceso de freído a 140 y 160 °C, como se aprecia en la tabla 1. Analizando estadísticamente, se determinó que no hubo cambio significativo en las dimensiones antes y después del empanizado de las placas de pollo. Por otro lado, al comparar las dimensiones de las placas de pollo empanizadas a 140 y 160 °C se observó que tanto en ancho como en espesor si existió una diferencia significativa (α = 0.05), siendo mayores las placas empanizadas fritas a 160°C. Esto significa que a mayor temperatura las placas incrementaron su volumen.

Tabla 1. Análisis de Dimensiones en Placas de Pollo

Proceso	ΔL(cm)	Δa	Δx	Δm(g)
Crudo/empanizado	0.27	0.17	0.17	2.57
Empanizado/frito 140 °C	-0.73	-0.43	0.23	-2.82
Empanizado/frito 160°C	-0.40	0.20	0.97	-4.45

La mayor pérdida de masa a mayor temperatura (4.45 para 160°C y 2.82 g para 140°C) se atribuye a una mayor transferencia de calor y de masa.

Perdida de Humedad y Ganancia de Grasa

El cambio en el contenido de humedad, como ha sido observado en otros trabajos, es similar al secado con aire (Vélez et al., 2002) El porcentaje de humedad de las placas fritas a 140°C disminuyó significativamente en el segundo minuto del proceso, mientras que para 160°C, se registró en el primer minuto de freido. La figura 1 muestra la evolución de la humedad.

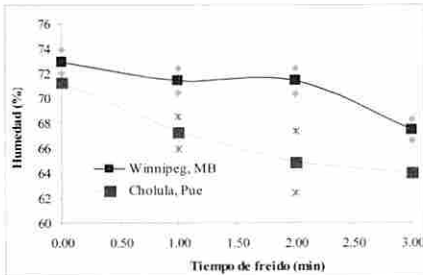


Figura 1. Perfil de Humedad en el Freido a 160°C.

El contenido de grasa, durante el freido a ambas temperaturas, aumentó significativamente (en el primer minuto de freido). En los últimos dos minutos del proceso para ambas temperaturas, se observó una pequeña desorción (Fig. 2). Este comportamiento ya ha sido reportado por varios autores, Balasubramaniam et al. (1997) lo mencionan como resultado de la acción capilar.

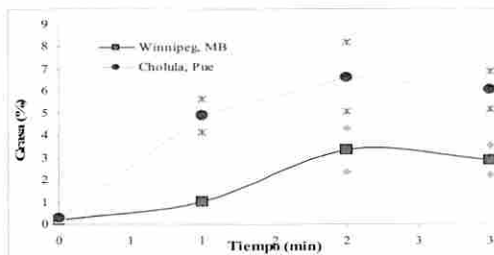


Figura 2. Perfil de Grasa en el Freido a 160°C.

Las placas de pollo que fueron tratadas a 110°C con vapor sobrecalentado tuvieron menor grasa que las placas fritas únicamente, que resultó ser significativa ($\alpha = 0.05$).

Propiedades Físicas

El cambio neto de color (entre muestras al inicio y al final del proceso de freido) se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. Cambio de Color entre las Placas de Pollo

Muestras	ΔE
Placas de pollo empanizadas a 140°C	8.21
Placas de pollo empanizadas a 160°C	23.96
Nuggets Tyson fritos a 170°C	1.57

El cambio neto de color de las placas empanizadas fritas a 160°C es mayor que en las demás muestras. Esto indicó que si hubo un cambio significativo ($\alpha = 0.05$) en el color al inicio y final del proceso de freido, ya que se adquiere el color característico de los productos fritos. El color de las placas empanizadas pre-tratadas a 140°C durante 3 minutos y fritas por 70 segundos, fue el más cercano al color de las placas de pollo fritas sin pre-tratar.

La textura de placas de pollo fritas se muestra en la tabla 3. La fuerza de las placas fritas a 160°C es significativamente mayor, por lo que se puede decir que poseen una superficie más crujiente. La textura del empanizado a 140°C es significativamente más crujiente que los comerciales, y menor que las placas fritas a 160°C

Tabla 3. Fuerza de Penetración de las Muestras

Muestra	Fuerza (N)
Placas empanizadas fritas (140°C)	2.30 \pm 0.17
Placas empanizadas fritas (160°C)	3.10 \pm 0.08
Nuggets Tyson fritos (177°C)	1.44 \pm 0.21
Nuggets Tyson calentados	1.33 \pm 0.29

La fuerza necesaria para placas pretratadas con vapor sobrecalentado fue menor, de 0.8 a 1.6 N, según el tiempo de tratamiento. La temperatura de inyección no tuvo efecto significativo sobre la textura de las placas después del freido

Tanto la densidad (890-1010 kg/m³) como la conductividad térmica (0.46 a 0.49 W/m°C), fueron constantes a lo largo del freido. Estos valores acordes a los reportados para piezas de pollo, 1040 kg/m³ (Rao y Delaney, 1995) y 0.41 W/m°C (Moreira et al., 1999).

Propiedades de Transporte

El coeficiente difusional evaluado con el modelo de Fick, resultó de una magnitud de 1.66 x 10⁻⁸ m²/s para el freido; mismo que aumentó aparentemente con la aplicación de vapor (2.4-3.2 x 10⁻⁸ m²/s). Se calculó un coeficiente superficial de 98 a 108 W/m²°C, que se puede considerar como promedio de los coeficientes evaluados en tres periodos, para los primeros 100 s: h = 47, para 100 -200 s: h = 79, y para los últimos segundos, h = 218 W/m²°C.

Finalmente en la prueba sensorial comparativa, el color de las placas pre-tratadas resultó ser de menor agrado que las fritas, ya que obtuvieron una calificación de 4.6 y 7.4, respectivamente. La textura, el sabor y la aceptabilidad general de ambas muestras no presentaron diferencia significativa al 95% de nivel de confianza.

CONCLUSIONES

Las placas de pollo empanizadas muestran una transferencia de masa y calor entre el interior de la placa y el medio de calentamiento afectada por los ingredientes que contienen. como son la harina, el huevo y la pechuga de pollo. La temperatura del aceite influye en la absorción de grasa en el empanizado, en el color, en la textura y en la temperatura del centro de la placa. La densidad y la conductividad térmica del pollo durante el proceso de freido no cambian significativamente durante el proceso de freido.

El tratamiento de inyección de vapor sobrecalentado tiene un efecto significativo en la absorción de grasa durante el freido de placas de pollo empanizadas, ya que disminuye la absorción de grasa durante el freido. También tiene un efecto significativo sobre la luminosidad del empanizado de las placas, siendo mayor que en las placas fritas. El pretratamiento también afectó la textura del empanizado a tiempos cortos, siendo significativamente menos crujiente que a tiempos prolongados. El pre-tratamiento con vapor sobrecalentado promete ser conveniente para la disminución de absorción de grasa a temperaturas bajas, controlando la condensación en la superficie de las placas.

REFERENCIAS

Cenkowski S., Pronyk C., Zmidzinska D. y Muir W.E. 2006. Decontamination of food products with superheated steam. CIGR Section VI, International Symposium on FUTURE OF FOOD ENGINEERING, Varsovia, Polonia, 26-28 Abril. 6 hojas.
 Garayo J. y Moreira R. 2002. Vacuum frying of potato chips. Journal of Food Engineering, 55, 181-191.
 Lloyd B. J., Farkas B. E. y Keener K. M. 2004. Quality comparison of french fry style potatoes produced by oven heating, immersion frying and controlled dynamic radiant heating. Journal of Food Processing and Preservation, 28, 460-472.
 Moreira R. G., Castell-Pérez M. E. y Barrufet M. A. 1999. Deep-fat frying, fundamentals and applications. Ed. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland.
 Sosa-Morales M.E., Orzuna-Espiritu R., y Vélez-Ruiz J.F. 2006. Mass, thermal and quality aspects of deep-fat frying of pork meat. Journal of Food Engineering 77: 731-738.
 Vélez J. F., Vergara F. T., Sosa M. E. y Xique J. 2002. Effect of temperature on the physical properties of chicken strips during deep-fat frying. International Journal of Food Properties, 5 (1), 127-144.

USING RESPONSE SURFACE ANALYSIS TO OPTIMIZE THE EFFECT OF THE HIGH-INTENSITY ULTRASOUND TREATMENT ON THE FUNCTIONAL PROPERTIES OF EGG WHITE

Gélvez Victor. Manuel., Mendoza Galvis. Franklin., Delgado Javier Orlando.
 UNIVERSITY OF PAMPLONA
 FOOD INNOVATIONS RESEARCH GROUP
 FOOD SCIENCE DEPARTMENT
 KM. 1 VÍA BUCARAMANGA – PAMPLONA. E. mail. unipamplona.edu.co
 PAMPLONA-COLOMBIA

KEY WORDS: Ultrasound, Egg whites, Foaming, Freshness, Functional properties.

ABSTRACT

The aim of this work was to study the effect of treatment of high intensity ultrasound (40 KHz) on egg whites from old eggs (sample 1) and fresh eggs (sample 2) during 0, 5, 10 and 15 minutes with the environmental temperature of 20 °C. The outcome of fresh and old egg whites (the Haung units and egg yolk coefficient) analyses after four days using visible transmittance spectroscopy technology and measurement of pH showed the following effect: The effect of ultrasound was observed in the pH, foaming property, foam stability for three days; and also, the interaction of time for the treatment and storage on the same properties were analyzed by response surface analysis (RSA). The results showed that the pHs of the samples treated by high intensity ultrasound were not affected by the storage time. The high intensity ultrasound treatment was increased. The RSA showed the optimal interaction of the time treatment and storage.

1. Introduction

The Egg (*Gallus domesticus*) is a rich and well-balanced source of essential nutrients for the human diet composed of fatty acids, iron, phosphorus, trace minerals, vitamins A, B6, B12, D, E, and K, plus proteins of high biological value (Stadelman & Cotterill, 1995, Telis-Romero *et al.*, 2006). It is one of the most consumed foods worldwide, being an important commodity in international trade. On the other hand, the egg industry is an expressive segment of the food market, with a large supply of egg derivatives, such as; dried, frozen and liquid egg-products, being used as ingredients in food formulations or food services.

Protein (albumen) is the major component of the egg white (9.7-10.6% w/v). The carbohydrates (which account for 0.5-0.6% w/v of the egg white) exist either in the free form or combined with protein. Glucose (at 0.5%) accounts for about 98% of the total free carbohydrates. The amount of lipid in the egg white is negligible (0.01%) compared with the amount present in the yolk (4%) (Powrie and Nakai, 1986).

Hen egg white's proteins have been extensively utilized as ingredients in food processing, because egg white proteins possess multiple functional properties (*e.g.* foaming, emulsification, heat setting and binding adhesion). These proteins are desirable ingredients in many foods, such as; bakery products, meringues, meat products and cookies. Investigations into the physicochemical characteristics of these proteins have aided the elucidation of their structure-function relationships for the benefit of food technologists (Kato, *et al.*, 1993, Craig y Reg, 2002).

The high-intensity ultrasound causes physical disruption of the material to which it is applied and promotes certain chemical reactions. The current uses of high-intensity ultrasound are cleaning, liquid degassing, homogenization and welding. The possible effects of high-intensity ultrasound in food processing include the disruption of microorganisms and enzymes, generation of dispersion and emulsion or promotion of certain chemical reactions, and thereby high-intensity ultrasound is considered to be a potential unit operation of nonthermal processing of food (Lee, *et al.*, 2002).

Response surface analysis (RSA) has been used to optimize the processing parameters to improve the quality of many products, including the crispness of banana chips (Jackson *et al.*, 1992), sumiri gel texture (Chen *et al.*, 1993), and the enzymatic maceration of heart of palm (Kitagawa *et al.*, 1994).

Using RSA, the processor can determine how various processing conditions, within the constraints of their equipment, will affect a variety of functional properties of their product over a wide range of processing conditions. Using this information, a processor can deliver a higher quality product to the consumer. The objective of this research was to develop a RSA model for several functional properties based on a range of time and temperature combinations.

The aim of this study is to research the effect of the high-intensity ultrasound treatment on the functional properties of egg whites using the RSA to predict functional properties based on a range of time storage and intensity treatment.

2. Materials and Methods.

2.1 Egg white

The old eggs (C type, sample 1) and fresh eggs (AA type, sample 2) were purchased from local supermarkets in Pamplona. The egg was broken and separated by hand. The egg white was separated from the egg yolk and the chalazae was removed.

2.2 Sample preparation

The egg whites (EW) were filled in 25 ml cellulose tubes (22 mm in diameter, Talsa, Colombia), packed in polyethylene plastic packs and vacuum sealed (95% vacuum, Encovac 1500, Germany) to avoid any direct contact with the treatment medium.

2.3 Treatments

The high intensity ultrasound treatment was carried out using a lab-scale ultrasound equipment (Branson, 100, USA). One treatment of 40 KHz was applied to samples three times (5, 10 and 15 minutes, each treatment 1,2,3 respectively). The control sample corresponds to 0 time treatment. The treatments were done at environmental temperatures of 20 °C ± 2°. After the treatment the samples were stored using refrigeration (4° C) until the next analysis.

2.4 Analysis.

2.4.1 pH.

The pH of the EW was determined by a laboratory pH meter (HI1208, Hanna Instruments, Italy) for egg white samples treated with high intensity ultrasound and control samples for four days, as an indication of freshness (Lee, 2002).

2.4.2 Freshness

The egg freshness was determined for intact eggs using visible transmittance spectroscopy technology (Hach DR4000U, USA), based on the sensitive spectral wavelength at 465 nm (Yande, *et al.*, 2007). Two parameters were analyzed:

$$\begin{aligned} \text{Hugh Unit} &= -2.0255 e^{(3.835 - 45.87T)} + 93.35 \\ \text{Yolk coefficient} &= -0.0109 e^{(3.835 - 45.87T)} + 0.5001 \end{aligned}$$

where T = transmittance (%).

2.4.3 Foaming Property

The foaming property is expressed by foaming power [%Overrun]. The foams of EW were prepared by beating EW using a mixer equipped with double whipping beaters (Samurai, Colombia). 100 ml of EW that were added into a bowl and beaten for 5 mins. at maximum velocity which was specified as an 'egg whipping speed'. Then the produced foams were gently filled into the weighing boats (25 ml) avoiding the formation of air pockets, and the excess foams were scraped off the top of the weighing boat using a spatula. The efficiency of foam production was expressed in terms of

%Overrun (Phillips *et al.*, 1990, Lee, 2002). This property was analyzed during a space of four days.

$$\% \text{Overrun} = \frac{(\text{wt } 25 \text{ ml EW}) - (\text{wt } 25 \text{ ml foam})}{(\text{wt } 25 \text{ ml foam})} \times 100$$

2.3.1 Foam stability

Foam stability was determined by monitoring the drainage of foam at ambient temperatures. The foams were filled into a 5 ml pipette with a tip diameter of 5.0 mm, and the weight of drained foams was measured. The foam stability was calculated by the ratio of the remaining foam after 20 mins. of drainage time (Phillips *et al.*, 1990, Lee, 2002). This property was analyzed for four days.

$$\% \text{stability} = \frac{(\text{wt drained foam}) - (\text{wt drained foam})}{\text{wt foam}} \times 100$$

Each measurement for the calculation of %Overrun and %Stability was repeated more than three times and the average values were reported.

2.3.2 Statistical Analysis

The EW experiments were performed in triplicate and the resulting data were analyzed General Linear Models Procedure of Statistics Analysis System (SAS, USA). The differences between means were compared using Student-Newman-Keuls's multiple range test with the significance of $p < 0.05$. The response surface analysis (RSA) model, which included storage time and treatment intensity that was fit to the data. The RSA model may include quadratic effects and any or all interactions of the treatment effects and storage time.

3 Results.

3.1 pH and freshness

3.1.1 pH

Table 1 shows that when the egg white is treated by high-intensity ultrasound, it did not show dramatic changes in its pH for four days. When high-intensity ultrasound is increased the egg white maintained its pH. This can be explained because ultrasound treatments of 24.6 W resulted in one log cycle reduction after 300 s of treatment time. Two log cycle reductions of *E. coli* were achieved after the same time of radiation when the power of ultrasound was increased to 42.0 W (Lee, *et al.*, 2003).

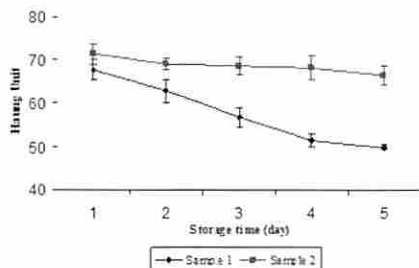
Table 1. Effects of time ultrasonic treatment and storage time in pH. Sample 1 and 2.

Sample 1				
Treatment	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4
0	8	7.7	7.5	7
5	8	8	7.5	7.5
10	8.3	8.3	8	8
15	8.3	8.3	8.2	8.2

Sample 2				
Treatment	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4
0	7.9	7.5	7.2	7
5	7.9	7.9	7.8	7.7
10	7.8	7.8	7.8	7.8
15	7.9	7.8	7.8	7.8

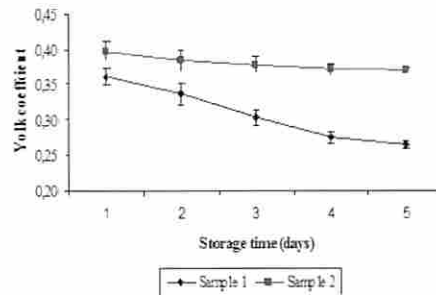
3.1.2 Haung Units

Graphic No. 1 shows the haung units. We can see that there was a strong negative relationship between the freshness indexes and the storage time; This according to studies development by Liu, *et al.*, (2007) found that the transmittance ratio could be indirectly used to inspect the freshness of eggs.



Graphic 1. Effects of storage time in the Haung unit. Sample 1.

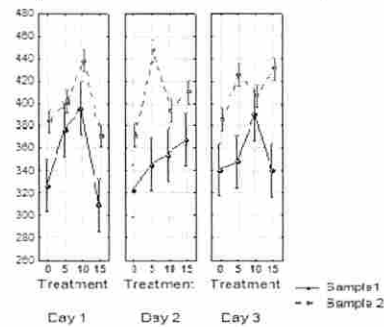
The egg yolk coefficient is another parameter that shows the freshness degree of the egg. The sample #2 maintained its freshness in the storage time; nevertheless, sample 1 was affected by time diminishing its freshness significantly ($p < 0.005$). Graphic 2.



Graphic 2. Effects of storage time in the egg yolk coefficient. Sample 2.

3.2 Foaming capacity

Graphic #3 shows the effect of time in the treatment of the foaming capacity. All the samples treated by high-intensity ultrasound treatment for 5 and 10 mins. increased the foaming capacity compared with those non-treated samples.



Graphic 3. Effects of time ultrasonic treatment and storage time of the foaming capacity.

On the other hand, the first day the samples were treated with 15 mins. to see the foaming capacity reduced, showed they were statistically different ($P < 0.05$) compared with those treated for 5 and 10 mins; but this foaming capacity was recovered in the following days.

In fresh egg whites (Sample 2) the increase of foaming capacity is statistically different ($P < 0.005$) with each treatment and its maintenance in time. However the old egg whites (sample 1) don't present the same tendency.

These results might be explained according to studies done by Güzey (2002) which showed that aqueous Bovine Serum Albumin (BSA) solutions (3×10^{-4} M) treated with high-intensity ultrasound at an intensity of 20 W/cm² for up to 45 minutes resulted in the formation of a structural intermediate of the native BSA molecule. This author found that with increasing time of sonication the α -helical content of BSA increased from 61.1 to 74.5% and β -sheet and the content decreased from 6.2 to 3.4%. This indicates an increased degree of order in the protein molecule changes. On the other hand, it showed that aqueous BSA increased the rate of absorption and surface hydrophobicity without any decrease in the helical content. This suggests that protein molecules might be undergoing a molecular orientation due to sonication. Possibly, ultrasound treatment exposes some of the natively hydrophobic groups in the protein molecule to the exterior, which would increase the surface hydrophobicity of the molecule and, thus, the rate of adsorption at the air-water interface. Another explanation is that protein monomers after sonication might be forming dimers through their exposed free thiol groups. Dimerization of BSA after ultrasound treatment was also suggested by Hess and co-workers in 1964 as a result of ultrasound treatment with BSA (Hess, *et al.*, 1964). They found an increase in the molecular weight from BSA from 66 kDa to 110 kDa using light scattering.

3.3 Response Surface Analysis (RSA)

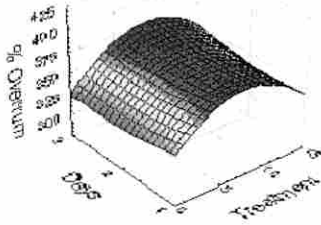
The application of RSA to be studied in the foaming capacity shows an increase in the storage day and an increase in the ultrasound time; this increased the foaming capacity. This

tendency is independent of both fresh egg white and old egg whites.

The overface (superface) response analysis showed the following equations; for sample1 graphic 4):

$$\%Overrun = 356.1889 + 9.7044X - 28.7167Y - 0.6778X^2 + 0.743Y^2 + 6.0833XY^2$$

When X= treatment and Y= time

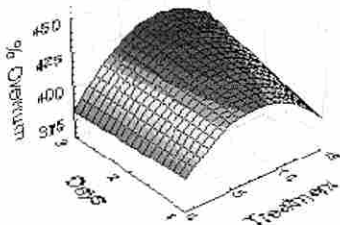


Graphic 4. RSA for analysis to % overrun. sample 1.

The response surface model for sample 2 is (graphic 5):

$$\%Overrun = 388.4722 + 6.7278X + 2.7667Y - 0.5278X^2 + 1.18X^2Y + 0.1667Y^2$$

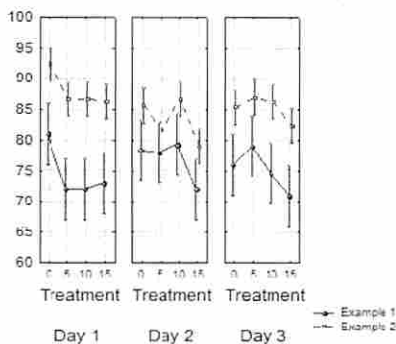
The shape of the response surface was different for the % overrun due to the age of the egg.



Graphic 5. RSA for to analysis % overrun. Sample 2.

3.1 Foaming stability

The foaming stability in fresh egg whites is diminished by ultrasound treatment but is maintained over time for both fresh egg whites and old egg whites. Foams consist of a condensed continuous phase (liquid as in whipped cream and ice cream or solid as in bread) and a gaseous dispersed phase (Dickinson, *et al*, 1982, 1992). Globular proteins are widely used in the food industry to facilitate the formation and stabilization of foams (Damoradan, *et al.*, 1996).



Graphic 6. Effects of time ultrasonic treatment and storage time in the foaming stability.

The quality attributes of foams, such as, the appearance, texture and stability, are determined by the size and concentration of the gas bubbles distributed throughout the continuous phase (Damoradan, *et al.*, 1996). Protein molecules rapidly adsorb to the surfaces of freshly formed bubbles, reducing the interfacial tension. Once adsorbed to the surface of gas bubbles protein molecules protect them from merging with each other by generating repulsive forces between the bubbles, e.g., electrostatic, steric and hydration repulsion. Many globular proteins undergo conformation changes after they have been adsorbed to the surface of a bubble promoting the formation of intermolecular protein-protein interactions;

often done through hydrophobic and disulfide bonds. As a result of these protein interactions, the membrane surrounding the gas bubbles becomes highly viscoelastic and resistant to deformation (Dickinson, 1999).

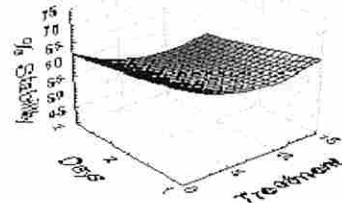
3.2 Response Surface Analysis

The surface response analysis showed that foaming stability is dependent on the age of the egg. The foaming is more stable when eggs are fresh.

The response surface model for sample 1 and 2 is shown in (graphic 7 and 8) of foaming stability.

$$Stability = 73.1833 - 1.4633X - 5.35Y + 0.0767X^2 + 0.0533X^2Y + 0.5Y^2$$

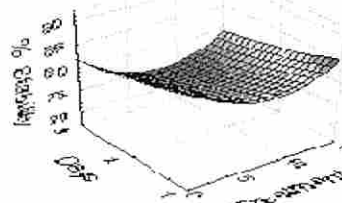
Sample 1



Graphics 7. Surface response plot. Effect of interaction between ultrasonic treatment and storage time in foaming stability. Sample 1.

$$Stability = 93.7833 - 1.81X - 5.95Y + 0.1033X^2 + 0.0267X^2Y + 0.6667Y^2$$

Sample 2



Graphics 8. Surface response plot. Effect of interaction between ultrasonic treatment and storage time in foaming stability. Sample 2.

2 Conclusions

The application of high-intensity ultrasound (40 KHz) to the egg white enhances the foaming capacity with increasing time of sonication and storage time. The results were attributed to the formation of a stable structural intermediate of the egg whites that is gained with small changes in the molecular flexibility of ultrasonicated egg white molecules. Dimerization of egg whites through their exposed free thiol groups after sonication is another possible mechanism of ultrasound modification of egg whites.

The foaming formed with egg whites treated by-intensity ultrasound (40 KHz) diminishes its stability, but is maintained in the time for both fresh egg whites and old egg whites.

References

Dong-Un Lee. (2002). Application of Combined Non-Thermal Treatments for the Processing of Liquid Whole Egg.

Damodaran.S. (1996) Amino Acids, Peptides and Proteins. *Food Chemistry*, Ed. editor In O.R.Fennema. 3 ed. Dekker, New York.

Dickinson E. and O.Stainsby (1982). Colloids in Foods. *Applied Science*, London:Applid Science Publishers.

Dickinson E. (1992.). An Introduction to Food Colloids, Oxford: University Press, Oxford.

Dickinson.E. (1999). Adsorbed Protein Layers at Fluid Interfaces: Interactions, Structure and Surface Rheology. *Colloids and Surfaces B-Biointerfices*.

Hess, E. L. P. W. L. Chun and R. L. Crowley. (1964). Sonic Energy Effects in Bovine Serum Albumin Solutions. *Science*.

Phillips, L. G. German J. B., O'Neill T. E. Foegeding E. A., Harwalkar V. R., A. Lewis B. A. Mangino M. E. Morr C. V. Regenstein J. M. Smith Kilara, and J. E. D.M.and Kinsella. (1990). Standardized procedure for measuring foaming properties of three proteins, a collaborative study. *Journal of Food Science*, 1441-44, 1453.

Yande Liu a, b Yihin Ying a * AiguoOuyang b Yanbin Li a c, (2007). Measurement of internal quality in chicken eggs using visible transmittance spectroscopy technology. *Journal of Food control*.

EVALUACIÓN DEL ALMACENAMIENTO DEL GRANO DE MAÍZ (*Zea mays*) EN LA CALIDAD DEL ACEITE OBTENIDO POR EXTRACCIÓN MECÁNICA

Hernández, Carlos Enrique, Rodríguez A., Ysamar J., Mieres-Pitre, Alberto
 Universidad de Carabobo. Facultad de Ingeniería. Escuela de Ingeniería Química
 Valencia – Venezuela

e-mail: carherna@uc.edu.ve, albertopitre@intercable.net.ve

Palabras clave: aceite de maíz, extracción mecánica, almacenamiento de maíz, calidad del aceite.

RESUMEN

El objetivo general de este trabajo fue evaluar el almacenamiento del grano de maíz en la calidad del aceite crudo obtenido por extracción mecánica, con la finalidad de obtener un producto oleoso para consumo humano y animal que cumpliera con los parámetros de calidad exigidos por las empresas refinadoras de aceite y de consumo animal en Venezuela. Para ello fue necesario realizar un diagnóstico de las características fisicoquímicas actuales del aceite crudo de maíz y de la materia prima (grano de maíz), para luego determinar los factores que influyen sobre la calidad del mismo y analizarlos para determinar la intensidad de su influencia. Una vez que se determinó el factor más influyente, se procedió a la generación de alternativas para mejorar la calidad del aceite crudo, y luego se seleccionó la alternativa que mejor representaba la solución al problema. La metodología consistió en tomar muestras de aceite crudo y grano de maíz para evaluar y monitorear sus características fisicoquímicas. Los factores que influyen en el deterioro del grano durante el almacenamiento son el diseño del sistema de ventilación en los silos grandes, el diseño del silo y la deficiencia del flujo de aire en la aireación. La implementación de la alternativa seleccionada aporta una mejora del 61,15% en relación a la deficiencia del flujo de aire.

INTRODUCCIÓN

El grano de maíz es transportado en barco desde el país de procedencia (generalmente los Estados Unidos) hasta puerto venezolano (Puerto Cabello), desde allí se transporta en camiones hasta donde va a ser almacenado. El grano se almacena en silos de concreto, distribuidos de la siguiente manera: seis (6) silos tipo cilíndrico de fondo semicónico, de 2400 toneladas de capacidad, su sistema de ventilación es de tipo distribuidor, el cual consiste en dos ventiladores de 46 hp, 1770 rpm y 930 m³/minuto de aire, uno para cada tres silos; doce silos (12) tipo cilíndrico cónico de 700 toneladas de capacidad; y ocho (8) estrellas, las cuales son los espacios que existen entre los silos. Una vez almacenado el grano, este es secado para disminuir su humedad en el almacenamiento. El grano se mantiene fresco mediante ventilación forzada.

El aceite crudo se vende a empresas refinadoras de aceite y de consumo animal. Dichas empresas, exigen ciertos parámetros de calidad para el aceite crudo, por lo que si éste no cumple con éstos requisitos, el precio de venta del producto disminuye o simplemente el cliente no lo compra. Actualmente, el aceite crudo no cumple con todos los requisitos de calidad exigidos por las empresas antes mencionadas, por lo que éstas no lo compran disminuyendo así los ingresos económicos de la compañía. En vista a esta situación, se plantea evaluar el almacenamiento del grano de maíz en la obtención de un aceite de alta calidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Análisis para el aceite crudo de maíz:

Determinación del índice de peróxido: se realizó de acuerdo a la norma COVENIN 508 (2001). Se pesó 5 g de muestra de grasa o aceite en un Erlenmeyer de 250 mL y se añadió 30 mL de la mezcla de ácido acético glacial y cloroformo (3 + 2 en volumen). Se agitó suavemente el matraz hasta que se disolviera la muestra. Se agregó 0,5 mL de solución saturada de

yoduro de potasio, se agitó suavemente y se dejó reposar exactamente 1 minuto. Transcurrido este tiempo, se agregó 30 mL de agua destilada y se valoró con tiosulfato de sodio 0,01 N empleando 0,5 mL de almidón como indicador. Se añadió el tiosulfato gradualmente y con agitación constante y vigorosa. Se agitó el matraz vigorosamente cerca del punto final para liberar todo el yodo de la capa de cloroformo, en ese momento se añadió tiosulfato gota a gota hasta la decoloración de la capa acuosa.

Determinación del índice de acidez: se realizó siguiendo lo estipulado en la norma COVENIN 325 (2001). Se pesó 10 g de aceite crudo en una fiola. Se agregó 75 mL de alcohol etílico al 95% previamente calentado a ebullición conteniendo 4 mL de fenolfaleina y suficiente NaOH 0,1 N para que el alcohol adquiriera un color rosado inmediatamente antes de añadirlo al aceite crudo. Se calentó la fiola hasta que el aceite comenzara a hervir. Luego, se tituló con NaOH 0,1 N agitando vigorosamente hasta que un color rosado de la misma intensidad cuando se metalizó el alcohol permaneciera más de 30 segundos.

Determinación del color: se realizó de acuerdo a la norma COVENIN 1191 (1996).

Pruebas de calidad del grano de maíz

De acuerdo a González (1995), las pruebas de calidad que se deben efectuar al grano de maíz son las siguientes: homogenización y división de la muestra, determinación de la humedad, determinación de impurezas y análisis selectivo o tipificación de la muestra.

RESULTADOS

En la figura 1 se puede apreciar que el índice de acidez se encuentra por encima del límite máximo hasta el mes de febrero, que es cuando empieza a disminuir quedando así dentro de especificación. A partir de dicha fecha se observa un comportamiento estable del mismo. En cuanto al índice de peróxido, se tiene que éste empezó a estar fuera de especificación a partir del mes de marzo, y desde ese momento su comportamiento es irregular teniendo valores muy por encima del límite máximo (2,5 mEq/kg). Éste empezó a disminuir a partir de agosto. En cuanto al color (rojo y amarillo) se tiene que permanecen estables y dentro de especificaciones a lo largo del tiempo de estudio (ver figura 2).

En la tabla 1 se presenta el análisis realizado al maíz en el momento de la recepción para diciembre de 2005 y junio de 2006. Se puede apreciar que el porcentaje de materia extraña y granos partidos, está por encima de la especificación para maíz grado USS N° 2, la cual es de 3%. Aunque el resto de los parámetros se encuentran dentro de la especificación, es importante destacar que el porcentaje de granos dañados incrementó casi el doble entre cada recepción.

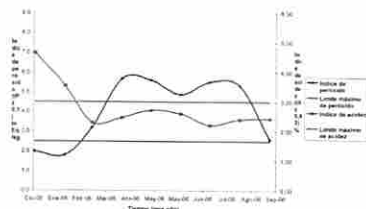


Figura 1. Comportamiento del índice de peróxido e índice de acidez

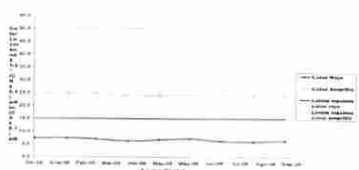


Figura 2. Comportamiento del color en el tiempo

Tabla 1. Análisis fisicoquímico del grano de maíz

Análisis fisicoquímico	Resultado Diciembre 2005	Resultado Junio 2006
Humedad, %	14,83	14,82
Materia extraña + granos partidos, %	4,53	4,82
Granos dañados totales, %	2,30	4,14
Granos quemados, %	0,05	0,02
Granos atacados por insectos, %	0,02	0,02
Granos de maíz con ligero tinte rojo, %	7,64	8,37

Observando los valores resultantes presentados en las figuras 1 y 2, el parámetro de calidad que se mantiene inestable y fuera de la especificación de calidad requerida por la empresa es el índice de peróxido.

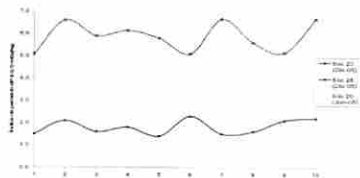


Figura 3. Comportamiento del índice de peróxido en el aceite crudo de maíz para los silos grandes.

El comportamiento de las curvas que se tiene en los silos grandes se debe a debilidades en el diseño, tanto de los silos como del sistema de ventilación. De la manera como se diseñaron los silos, el maíz que pasa primero a molienda es el último que entra en el silo, por lo que lo último que pasa es lo primero que entró, siendo éste el más viejo. En los silos grandes, el maíz del fondo del silo lleva consigo todo el peso además del problema de ventilación que se presenta. El ducto de ventilación debe estar diseñado de manera tal que el flujo de aire se distribuya por toda la masa del grano uniformemente. Éste ducto de ventilación no tiene rejillas a lo largo del mismo, por lo que todo el flujo de aire sale por el extremo dejando una masa del grano sin ventilar, causando así una zona caliente donde se presentan problemas de desarrollo de plaga, calentamiento y por consiguiente el deterioro del grano. Esta es la razón por la cual el índice de peróxido es irregular a medida que pasa el tiempo, incrementándose en los últimos puntos debido a que la última masa de grano es la que tiene más tiempo almacenado. El problema presentado por el sistema de ventilación de los silos grandes, aparte del diseño de ventilación, radica en que la tasa de flujo de aire es deficiente. Esto se debe a que sólo existen 2 ventiladores para 6 silos, es decir 1 ventilador por cada 3 silos. El suministro de aire aportado por cada ventilador es de 930 m³/min, es decir 310 m³/min de aire para cada silo. Haciendo los cálculos correspondientes, se tiene que el diseño del sistema de ventilación se hizo con una tasa de flujo de aire de 1/10

CFM/bushel (0,08 m³/min/m³ de grano), la cuál es la tasa de flujo recomendada para la zona sur de los Estados Unidos. La tasa de flujo mínima recomendada para climas tropicales es de 0,3 m³/min/m³ (0,38 CFM/bushel) (Reed, 1999), ya que en el trópico hay menos horas de aire fresco que en los climas templados y de esta manera es necesario optimizar la ventilación con un motor más potente y menos horas de ventilación. En los silos pequeños el comportamiento del índice de peróxido es más regular que en los silos grandes (ver figura 4). La tendencia es el de incrementar progresivamente llegando a un punto máximo para luego disminuir. No existe la presencia de picos, además de que el tiempo de estudio es mucho más corto. Es importante destacar que el diseño de estos silos es diferente al de los grandes, así como el del sistema de ventilación. El ducto de ventilación para estos silos se encuentra ubicado por encima del cono, teniendo rejillas a lo ancho del mismo creando así un flujo de aire uniforme por toda la masa del grano. Uno de los problemas de este sistema es que la masa de grano que queda en el cono no se ventila, pero gracias al diseño de este silo la masa que entra primero es la primera en salir, por lo que ésta se encuentra en constante movimiento.

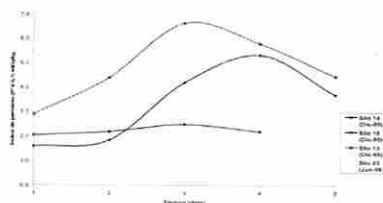


Figura 4. Comportamiento del índice de peróxido en el aceite crudo de maíz para los silos pequeños.

En función de la evaluación realizada la alternativa que se propone para la solución al problema es el mejoramiento del sistema de ventilación, mediante la colocación de un ventilador para cada silo grande, es decir, la adquisición de 4 ventiladores similares al que se tiene instalado actualmente, debido a que hay 2 ventiladores existentes y son 6 silos grandes. Las características del ventilador se presentan a continuación:

Tabla 2. Especificaciones de los ventiladores a instalar

Cantidad	Tipo	Motor		Flujo total de aire (m ³ /min)
		hp	Rpm	
4	Centrífugo	46	1770	930

Es importante destacar que el suministro de 930 m³/min de aire tampoco cumple con los requerimientos de aire necesarios, pero sí disminuye la deficiencia que se tenía de flujo de aire al no contar con estos ventiladores. La mejora es de una deficiencia de 703,95 m³/min a una deficiencia de 83,95 m³/min de aire, lo cual corresponde a una mejora del 61,15%.

CONCLUSIONES

El factor más influyente sobre el alto índice de peróxido en el aceite crudo de maíz es el deterioro del grano de maíz durante el almacenamiento, ocasionados por el diseño del sistema de ventilación en los silos grandes, el diseño del silo y la deficiencia de flujo de aire en la aireación. La alternativa seleccionada es la de mejorar el sistema de ventilación de los silos grandes, implementando 4 ventiladores de 46 hp, 1770 rpm, y 930 m³/min de flujo de aire, a fin de tener un ventilador por cada silo grande.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Comisión venezolana de normas industriales COVENIN 508-2001. "Aceites y grasas vegetales. Norma general". Ministerios de industrias ligeras y comercio -COVENIN. Venezuela, 2001.
 Comisión venezolana de normas industriales COVENIN 325-2001. "Aceites y grasas vegetales. Norma general". Ministerios de industrias ligeras y comercio -COVENIN. Venezuela, 2001.
 Comisión venezolana de normas industriales COVENIN 1191-1996. "Aceites y grasas vegetales. Norma general". Ministerios de industrias ligeras y comercio -COVENIN. Venezuela, 1996.
 GONZÁLEZ, U. (1995). "El maíz y su conservación". (1a. ed.). Trillas. México.
 REED, C. (1999). "Maíz Estadounidense, almacenamiento en climas tropicales". Estados Unidos. Revista de la Universidad de Kansas.

CARACTERIZACIÓN POSTCOSECHA DE 4 GENOTIPOS DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum* Cav.) CULTIVADOS EN ECUADOR

Ávila Jenny; Ruales, Jenny
 ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
 DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA
 Casilla 17-01-2759. E. mail. jruales@pi.pro.ec
 QUITO – ECUADOR

Palabras clave: caracterización físico – química postcosecha, tasa de respiración, no climatérico, polifenoles, tomate de árbol.

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue realizar la caracterización en postcosecha y determinar el contenido de polifenoles de 4 genotipos de tomate de árbol cultivados en Ecuador. Se estudiaron los genotipos Amarillo Gigante, Amarillo Redondo, Amarillo Puntón y Morado Gigante, cosechados con una madurez de consumo (70% de color externo) y almacenados a 4°C y 85% HR. Los 4 genotipos presentaron el patrón de frutos no climatéricos, el genotipo amarillo puntón presentó la intensidad más alta de respiración con una vida útil de 6 semanas en almacenamiento. Los frutos del genotipo morado gigante presentaron mayor peso, diámetro, longitud, volumen, rendimiento de pulpa, acidez titulable, concentración de sólidos solubles totales y materia soluble en la pulpa. El genotipo amarillo redondo presentó mayor contenido de semillas y luminosidad en cáscara. El genotipo amarillo gigante presentó mayor luminosidad en la pulpa. El genotipo amarillo puntón presentó mayor concentración de materia soluble en la cáscara. Mayor concentración de polifenoles solubles totales se cuantificaron en la cáscara del genotipo amarillo puntón y pulpa del morado gigante.

INTRODUCCIÓN

El tomate de árbol o tamarillo (*Solanum betaceum* Cav.) es una especie nativa de los Andes (Hernández y León, 1992; Alborno, 1993; Bravo, 1998; Soria Idrovo, 2001; Bernal y Díaz, 2003; León *et al.*, 2004), específicamente de Perú, Ecuador y Colombia (Soria Idrovo, 2001). Ésta fruta perteneciente a la familia de las Solanáceas, se cultiva en las zonas de climas templados y frescos de la sierra ecuatoriana, en altitudes comprendidas entre 600 a 3300 m.s.n.m., con temperaturas óptimas de entre 14 a 20°C y HR de 70% (Alborno, 1993; Soria Idrovo, 2001).

En el Ecuador, el consumo de tomate de árbol ha tenido un desarrollo significativo en los últimos 15 años (FAO y MAG, 1996; Soria Idrovo, 2001; SICA, 2002), consumiéndose en campos y ciudades de Ecuador y Colombia, lo que ha incrementado también las áreas cultivadas. Según el III Censo Agropecuario y la Agencia de Servicio Agropecuario del Ministerio de Agricultura del Ecuador, las provincias representativas de éste cultivo son: Imbabura (6.280 TM), Tungurahua (5.495 TM), Azuay (2.650 TM) y Pichincha (2.301 TM) (CORPEI, ; MAG y IICA, 2001; SICA, 2002).

Dado que muchos de los huertos en Ecuador están constituidos por al menos de dos cultivares, predominando los anaranjados por su mayor valor comercial y en menor cantidad los morados (León *et al.*, 2004), la mayor cantidad de producto disponible no es homogéneo. Sin embargo, hay que aprovechar las ventajas comparativas existentes frente a otros países, ya que las condiciones agroecológicas óptimas que favorecen la óptima producción (Soria Idrovo, 2001), como temperaturas estables a lo largo de todo el año y prolongados períodos de luminosidad de la zona ecuatorial determina que la fruta tenga un mejor desarrollo en sus almidones, lo que resulta en un sabor menos ácido y muy agradable (CORPEI).

El genotipo más difundido es la tradicional anaranjado, habiéndose introducido últimamente el tomate "morado", de

color morado y pulpa más rojiza, pero de palatabilidad inferior (MAG y IICA, 2001).

Los genotipos que se producen en el Ecuador son (CORPEI):

- Tomate común, que es el preferido en la industria y por el consumidor
- Tomate mora, que es el segundo en aceptación
- Tomate redondo, que ya se esta perdiendo.

Otros autores (Feicán *et al.*, 1999; León *et al.*, 2004), aseguran que existe un genotipo mas, el tomate puntón anaranjado, cuya producción también ha disminuido. El sabor de la fruta difiere en su mezcla de sabor dulce y agrio según el genotipo (CORPEI).

El objetivo de éste trabajo es el de realizar una caracterización físico – química en la postcosecha y determinación de polifenoles solubles totales de 4 genotipos de tomate de árbol cultivados en Ecuador.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales.

Se usaron cuatro genotipos de tomate de árbol: Amarillo Gigante (AG), Amarillo Redondo (AR), Amarillo Puntón (AP) y Morado Gigante (MG), los dos primeros genotipos fueron cosechados en el granja experimental de Tumbaco del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias–INIAP los otros dos, fueron cosechados en plantaciones del cantón Patate de la provincia de Tungurahua.

Métodos.

Caracterización físico – química de postcosecha

Peso Inicial y Pérdida de Peso. Se pesó la fruta el mismo día que fue cosechada (día 0) y se midió el peso en gramos cada siete días, para determinar la pérdida de peso por diferencia de peso durante el tiempo de almacenamiento.

Longitud de la fruta. Tomando los extremos sobresalientes.

Diámetro de la fruta. Se determinó en la parte más ancha de cada fruta.

Volumen de la fruta. Se registró midiendo la cantidad de agua que desplaza el fruto.

Color de la fruta. Se determinó el color de la cáscara (parte externa) y de la pulpa (mitad transversal) del tomate de árbol en tres puntos diferentes empleando el colorímetro triestímulo (Mínolta, modelo CR-200). Los resultados se expresan como *L* (luminosidad) y el ángulo de tono o *ángulo de Hue*.

Firmeza: Se midió la fuerza de penetración en Newtons (N) con la ayuda de un penetrómetro con un punzón de 6 mm que atravesó la fruta en el eje central (Horwitz, 2000). Para determinar la acidez, pH y grados Brix, se preparó un jugo de tomate de árbol con agua destilada.

Acidez: Se empleó el método de acidez titulable según el AOAC, 942.15, 37.1.37. (Horwitz, 2000).

Sólidos Solubles Totales (%Brix): Se usó el método de sólidos solubles totales descrito por AOAC, 37.1.15 (Horwitz, 2000).

pH: Se determinó según el método de AOAC, 981.312, 42.1.04 (Horwitz, 2000).

Determinación de Materia Soluble. Se empleó el método descrito en AOAC, 920.151, 37.1.12 (Horwitz, 2000).

Determinación de la tasa de respiración. Se determinó en función de la producción de CO₂, medido en un analizador de gases *Post Harvest Research* provisto de un detector infrarrojo Horiba para CO₂ modelo VIA-510. Las muestras se tomaron cada semana de las mangueras de la entrada y salida de la cámara de respiración.

Determinación de polifenoles solubles totales. Se empleó el método de Folin-Ciocalteus (Bravo, 1998); y para la extracción una modificación del método desarrollado por Määttä *et al.*, 2001 (Määttä *et al.*, 2001; Vasco, 2005).

Análisis Estadístico.

Los resultados fueron analizados utilizando el análisis de varianza ANOVA ONE WAY, con la prueba de Tukey con límites de confiabilidad del 95%. Se utilizó el programa estadístico STATGRAPHICS Plus para Windows versión 5.1 (Statistical Graphics System, Statistical Graphics Corporation).

RESULTADOS

Caracterización. El genotipo Morado Gigante (MG) presentó mayor porcentaje de pulpa y menor porcentaje de cáscara que los otros genotipos. El que menor porcentaje de pulpa tiene es el genotipo Amarillo Puntón (AP), que también tiene el menor porcentaje de semilla.

Tabla 1. Rendimiento del porcentaje de cáscara, pulpa y semilla de 4 genotipos de tomate de árbol.

RENDIMIENTO DE LOS FRUTOS				
	AG	AR	AP	MG
Cáscara ¹	12,7±1,8	12,1± 0,6	13,6 ±0,7	11,0±1,7
Pulpa ¹	87,0±2,6	87,1±0,6	86,2 ±0,7	88,6±2,5
Semilla ¹	0,4±0,1	0,4± 0,1	0,3±0,1	0,3±0,1

¹ Media ± DE (n=80)

El genotipo MG presentó mayores valores en las variables de peso, diámetro, alto y volumen. El genotipo AR tiene mayor luminosidad en la cáscara, mientras que el genotipo AG presentó mayor luminosidad en la pulpa.

Tabla 2. Caracterización de 4 genotipos de tomate de árbol.

CARACTERIZACIÓN				
Variable	AG	AR	AP	MG
Peso ¹ (g)	85.9±14.5	61.8±9.7	54.9±7.7	175.7±32.2
Diámetro ¹ (cm)	5.5±0.4	4.6±6.0	4.5±0.7	6.6±0.8
Alto ¹ (cm)	6.7±16.9	4.9±0.3	7.4±6.7	8.1± 0.8
Volumen ¹ (ml)	83.9±14.3	57.2±16.4	50.6±8.6	179.3±39.9
L* Color cáscara ²	52.5±1.8	53.2±2.6	43.6±3.6	35.2±2.7
L* Color pulpa ²	53.2±1.5	50.7±1.4	51.9±3.4	34.3±4.9
Variable	AG	AR	AP	MG
Hue Externo ²	124.9±6.7	120.2±2.4	141.8±5.7	154.9±4.8
Hue Interno ²	108.7±1.4	106.5±1.6	104.4±3.0	133.8±7.4

¹ Media ± DE (n=80)

² Media ± DE (n=45)

Firmeza. Los genotipos AG y AR presentan mayor pérdida de firmeza a la cuarta semana de almacenamiento, mientras que MG tiene una rápida pérdida de textura a partir de la segunda semana de almacenamiento. La firmeza del genotipo AG es

significativamente mayor (p<0.05) en la segunda semana y cuarta semana a los demás genotipos. Los genotipos AR y MG son los que mayor firmeza perdieron, ya que pierden hasta el 75.58% de su textura inicial.

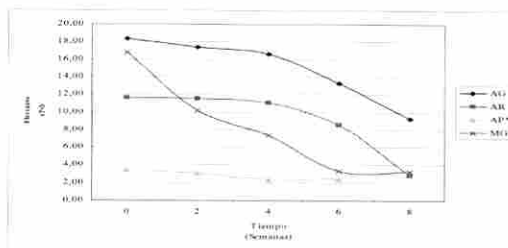


Figura 1. Pérdida de firmeza de 4 genotipos cultivados en Ecuador.

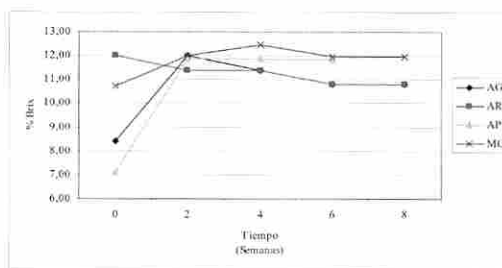
pH. Los valores de pH para la primera semana de almacenamiento, muestra una diferencia significativamente menor (p<0.05) del genotipo AG frente a los genotipos AR y AP que presentan el mismo valor de pH y el genotipo MG que tiene el mayor valor (3.63). A partir de la semana 4 se observa un valor significativamente mayor (p<0.05) del pH del genotipo AR que se mantiene hasta la última semana de almacenamiento. En la semana 8 se observa un pH significativamente menor (p<0.05) del genotipo AG, frente a los genotipos AR y MG.

Tabla 3. Variación del pH durante el almacenamiento de 4 genotipos de tomate de árbol.

Semana	pH			
	AG	AR	AP ¹	MG
0	2.2±0.07	3.5± 0.01	3.5±0.01	3.6± 0.01
4	3.5± 0.01	3.8± 0.01	3.5±0.01	3.4± 0.01
8	3.5±0.01	3.7± 0.01	3.8±0.01 ¹	3.6± 0.02

¹ Sexta semana de almacenamiento

Sólidos Solubles Totales (%Brix). Los 4 genotipos presentaron diferentes porcentajes de sólidos solubles totales a la primera semana de análisis, siendo significativamente diferentes (p<0.05) entre sí. El mayor porcentaje lo presentó el genotipo AR y el menor el genotipo AP. En la semana 4 el genotipo MG presenta un porcentaje significativamente mayor (p<0.05) a los demás.



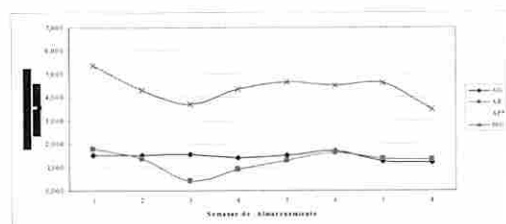
* AP durante 6 semanas de almacenamiento.

Figura 2. Sólidos Solubles Totales (% Brix) de 4 genotipos de tomate de árbol durante 8 semanas de almacenamiento.

Acidez. Para la primera semana de almacenamiento se observa diferencia significativa (p<0.05) entre los genotipos AG (0.40%) y AP (0.40%) frente a AR (0.25%) y MG (0.30%), siendo los primeros genotipos los de mayor acidez titulable. Para la cuarta semana se observa que el genotipo MG presenta un porcentaje de acidez (0.33%) significativamente mayor (p<0.05) que el resto de los genotipos. A la semana 8 la acidez del genotipo AG (0.33%) es significativamente mayor (p<0.05) que los genotipos AR (0.25%) y MG (0.28%).

Materia Soluble. No existe diferencia significativa (p<0.05) entre los 4 genotipos en el contenido de agua en la pulpa. En la humedad presente en la cáscara el genotipo AP (82.10%) presenta una diferencia significativa (p<0.05) frente a los genotipos AG (76.61%) y AR (77.31%), El genotipo MG (80.19%) no presenta diferencia significativa (p<0.05) entre los demás genotipos.

Tasa de Respiración. Todos los genotipos presentan una tendencia similar, que corresponde al modelo de una fruta no climatérica. Se observan dos grupos, donde los genotipos AG y AR presentan menor tasa de respiración que los genotipos AP y MG. Esta diferencia se puede atribuir a la localidad y a diferentes condiciones de cultivo de los genotipos.



* AP durante 6 semanas de almacenamiento.

Figura 3. Tasa de Respiración de los 4 genotipos de tomate de árbol durante 8 semanas de almacenamiento.

Polifenoles. El contenido de polifenoles se evaluó en la cáscara y pulpa de los 4 genotipos de tomate de árbol. El genotipo con mayor contenido en la cáscara es AP, que presenta diferencia significativa ($p < 0.05$) frente a los genotipos AR y MG. El genotipo AG es el que menos contenido de polifenoles presenta en la cáscara. En los análisis realizados en la pulpa, el genotipo MG presenta mayor concentración de polifenoles solubles totales, siendo su valor significativamente diferente ($p < 0.05$) a los demás genotipos. Los genotipos AG y AP, no presentan diferencia significativa ($p < 0.05$) entre sí; el genotipo AR presenta la menor concentración de polifenoles en la pulpa.

Tabla 4. Polifenoles Solubles Totales en la cáscara y pulpa de 4 genotipos de tomate de árbol.

Genotipo	Polifenoles ¹	
	Cáscara	Pulpa
AG	324,859 ± 2.88	87,627 ± 1.52
AR	389,250 ± 7.07	68,845 ± 2.24
AP	433,786 ± 0.245	93,448 ± 0.87
MG	384,739 ± 1.43	139,082 ± 4.07

¹ mg de polifenoles solubles totales/100 g de muestra fresca

CONCLUSIONES

El genotipo MG es el que mayor porcentaje de pulpa y menor porcentaje de cáscara presentó en referencia al rendimiento. El mayor contenido en semillas lo presentó el genotipo AR. El genotipo MG presentó mayor peso, diámetro, longitud y volumen. La mayor luminosidad en la cáscara la presentó el genotipo AR y en la pulpa el genotipo AG. El genotipo MG pierde drásticamente su firmeza a partir de la segunda semana de almacenamiento, los otros genotipos presentan una variación escalonada durante el almacenamiento. El genotipo MG presentó la mayor cantidad de sólidos solubles totales a partir de la segunda semana de almacenamiento. Para todos los genotipos la acidez titulable final (semana 8) es menor que la inicial (semana 0), aunque existen variaciones durante el almacenamiento, siendo el genotipo MG el que presentó mayor porcentaje de ácidos. El genotipo AP tuvo el mayor porcentaje de humedad en la cáscara y el genotipo MG el mayor porcentaje de humedad en la pulpa. El patrón de respiración de los 4 genotipos corresponde al de las frutas no climatéricas. El genotipo AP mostró la mayor tasa de respiración, que indica que es más perecible que los demás genotipos, ya que su vida útil de almacenamiento fue de 6 semanas mientras que los otros genotipos alcanzaron 8 semanas. El contenido de polifenoles solubles totales más elevado se observa en la cáscara del genotipo AP y pulpa del MG.

AGRADECIMIENTO

Este estudio fue financiado por el Proyecto PAVUC FP6-2003-INCO-DEV-2. Los autores agradecen al Ing. Juan León del INIAP-Tumbaco por el apoyo técnico en las actividades agronómicas durante la producción de las muestras de tomate de árbol.

BIBLIOGRAFÍA

- Albornoz G. 1993. El Tomate de Árbol (*Cyphomandra betacea* Sendt) en el Ecuador. Quito: Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Agrícolas. Fundación para el Desarrollo Agropecuario (Fundagro). 129 p.
- Bernal J, Días, C. 2003. Tecnología para el Cultivo del Tomate de Árbol. Medellín: Imp. Begón Ltda. 144 p.
- Bravo L. 1998. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism and Nutritional Significance. *Nutritional Review* 317-33.
- CORPEI. TAMARILLO - TOMATE DE ARBOL
- FAO, MAG. 1996. Manejo Integral del Cultivo del Tomate de Árbol. Quito: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación-FAO. Ministerio de Agricultura y Ganadería-MAG. Proyecto FAO/TCP/ECU/2353. 29 p.
- Feicán C, Encalada, C, Larriva, W. 1999. El Cultivo del Tomate de Árbol. Cuenca: Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) Programa de Fruticultura. Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (COSEDU). 47 p.
- Hernández BJE, León, J. 1992. Cultivos Marginados, otra perspectiva de 1492. 92 *PecceJBdCEeeddPE*, editor. Roma: Colección FAO.
- Horwitz W. 2000. Official Methods of Analysis of AOAC International. 17 ed. Maryland.
- León J, Viteri, P, Cevallos, G. 2004. Manual del Cultivo de Tomate de Árbol. Quito: Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias-INIAP. Programa de Fruticultura. Ministerio de Agricultura y Ganadería-MAG. Tecnigrava. 51 p.
- Määttä K, Kamal-Eldin, A, Törrönen, R. 2001. Phenolic Compounds in Berries of Black, Red, Green and White Currants (*Ribes* sp.). *Antioxidants & Redox signaling*. 3(6):981-93.
- MAG, IICA. 2001. Identificación de Mercados y Tecnología para Productos Agrícolas Tradicionales para Exportación. Tomate de Árbol: CONVENIO MAG/IICA. Subprograma de Cooperación Técnica. (Préstamos BID / MAG 831/OC y 832/OC – EC).
- SICA. 2002. III Censo Nacional Agropecuario. Proyecto SICA. Servicio de Información y Censo Agropecuario.
- Soria Idrovo N. 2001. Tecnología del Cultivo de Tomate de Árbol. Proyecto SICA.
- Vasco C. 2005. Qualitive and Quantitive Analysis of Phenolic Compunds with Antioxidant Capacity in a Selection of Fruits and Vegetables Cultivated in Ecuador. M. Sc. Thesis Quito-Ecuador. Escuela Politécnica Nacional. 46 p.

EFECTO DE TRATAMIENTOS HIDROTÉRMICOS EN LA CALIDAD POSCOSECHA DE CHILE ANCHO (*Capsicum annuum* L.)

Pérez-Cabrera, Laura Eugenia*; Barba de Alba, Liliana; López Gutiérrez, Mario Alejandro; Stern Freifeld, Dafna.

- ⁽¹⁾ Departamento de Tecnología de Alimentos, ⁽²⁾ Departamento de Disciplinas Agrícolas, ⁽³⁾ Departamento de Fitotecnia, Centro de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma de Aguascalientes. Apartado Postal No.3. C. P. 20900, Jesús María, Aguascalientes, México.
⁽⁴⁾ Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Universidad Politécnica de Valencia, España
 * leperez@correo.uaa.mx

Palabras clave: almacenamiento y poscosecha, tratamientos térmicos, calidad, chile ancho verde.

RESUMEN

Los frutos del género *Capsicum* presentan limitaciones por la corta vida útil de comercialización y su alta sensibilidad al daño por frío. El empleo de tratamientos hidrotérmicos en poscosecha de frutas y hortalizas es una práctica muy utilizada para disminuir posibles daños causados por microorganismos y para inducir la termo tolerancia de frutos. Se obtuvieron dos variedades híbridas comerciales de alto potencial en la región (Corcel y Don Emilio) y se produjeron bajo condiciones de agricultura intensiva en campo. Los frutos se cosecharon, seleccionaron y se les aplicaron ocho diferentes tratamientos hidrotérmicos (temperaturas 65 a 50 °C y tiempos 30 a 300s). La aplicación de tratamientos a temperaturas superiores a 60°C provocó pérdidas de peso, pérdidas de firmeza (menor resistencia a la penetración, mayor distancia en mm) y mayores porcentajes de daños por lo que su uso no es conveniente ya que ocasiona un mayor estrés al fruto y consecuentemente una posible menor vida de anaquel para su comercialización en fresco.

INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas que continúa siendo de carácter grave en México son las altas pérdidas poscosecha de los productos vegetales ocasionando pérdidas al productor y al comercializador y cerrando los canales de comercialización (exportación o comercialización nacional). El cultivo del chile ancho ha incrementado notablemente en producción y demanda a nivel nacional y mundial en los últimos años (FAO, 2002). Este incremento debe estar asociado con la calidad del producto, por lo que es imprescindible ofrecer al consumidor un producto de alta calidad e inocuidad, lo cual se puede lograr determinando su calidad durante su vida de anaquel y su respuesta a tratamientos poscosecha (lavado y envasado). Los frutos de chile presentan limitaciones por la corta vida útil de los frutos y el alto costo de transporte. Para conservarlos se requiere de refrigeración, pero los frutos del género *capsicum* son susceptibles a daño por enfriamiento, desorden fisiológico provocado por el almacenaje prolongado de frutos a temperaturas inferiores a 5 °C. La sintomatología de daño por enfriamiento se caracteriza por maduración anormal y no uniforme, pérdida de agua, depresiones superficiales laminares y circulares, pardeamiento de semilla, desarrollo de patógenos como *Alternaria alternata*, que causa la pudrición de mayor importancia en almacenamiento prolongado (Risse y Chun, 1987), y *Botrytis cinerea* (Meier *et al.*, 1995), aumento de producción de CO₂ y etileno al trasladarla a temperatura ambiente, mayor susceptibilidad a enfermedades, y mayor permeabilidad de membranas celulares provocando salida de iones, siendo el daño progresivamente más severo durante el almacenamiento por largos periodos a bajas temperaturas (Lin *et al.*, 1993). González-Aguilar *et al.* (2000) indicaron que los síntomas vienen acompañados de varios cambios bioquímicos y fisiológicos, producidos por el efecto directo de la baja temperatura en los constituyentes celulares. La inmersión en agua caliente, que se ha usado tradicionalmente para controlar patógenos como hongos, se aplica por pocos minutos a temperaturas sobre 40°C, la cual es mayor a la que se utiliza

con aire caliente o vapor caliente, calentándose sólo la superficie del producto (Lurie, 1997). Su efecto es la inducción de termo tolerancia transitoria en muchas plantas (Mencarelli *et al.*, 1993), a través de la síntesis de un grupo de proteínas denominadas proteínas de golpe de calor (hot shock proteins), confiriendo al producto mayor tolerancia al daño por frío fue demostrado en frutos de pimiento (Cantwell, 2001). La inmersión en agua a 53°C por 3 min reduce considerablemente el daño por frío, y junto con la película plástica puede ser usada efectivamente para reducir el daño por frío y las pudriciones en frutos de pimiento (González-Aguilar *et al.*, 2000).

El objetivo de este trabajo es evaluar el impacto de ocho tratamientos hidrotérmicos sobre la calidad poscosecha de dos variedades híbridas de chile ancho (*Capsicum annuum* L.) y identificar el tiempo y temperatura más recomendables para el mantenimiento de la vida útil.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima fueron utilizados frutos en estado de madurez óptimo de dos variedades híbridas de chiles anchos (*Capsicum annuum* L.) Corcel (Seminis) híbrido con alto potencial de rendimiento, forma típica, de dos venas con un color verde oscuro y maduración chocolate y Don Emilio (Western seed) híbrido con alto rendimiento forma típica, a dos venas, con fruto de color verde oscuro y maduración en rojo. Los frutos fueron provenientes de la Finca Piloto de Platicultura de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, situada a 21°58' latitud Norte 102° 21' longitud Oeste y a 1,831 msnm. Producidas bajo condiciones de agricultura intensiva (acolchado y fertirriego). La fertilización se definió en base a análisis de suelos, y el control de plagas y enfermedades según calendario de aplicaciones definido en el un paquete tecnológico para cultivo de chile ancho. Los frutos fueron cosechados durante el ciclo primavera-verano 2007, y se transportaron en una hielera para su análisis. Los frutos fueron seleccionados en cuanto a tamaño y uniformidad (≈ 90 g) y se utilizaron los frutos libres de daños mecánicos o pudriciones. Aplicación de ocho tratamientos hidrotérmicos consistió en sumergir en agua clorada (200 ppm) a una temperatura determinada ± 1° C durante un tiempo determinado como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Diseño de tratamientos hidrotérmicos aplicados a chile ancho

Temperatura (°C)	65 °C	60 °C	55 °C	45 °C
Tiempo (s)	30 s	45 s	120 s	240 s
	45 s	60 s	180 s	300 s

Inmediatamente después de la aplicación del tratamiento hidrotérmico se los frutos se secaron a una temperatura (22°C) con ayuda de un ventilador para remover el exceso de agua. Envasado: las muestras aproximadamente 3 piezas por bolsa fueron envasadas en bolsas de polietileno (25x35 mm) con 8 perforaciones de Ø 0.5 mm por lado. Las muestras fueron envasadas por triplicado para cada tratamiento. Almacenamiento: las muestras fueron almacenadas durante 30 días a 8° C a una humedad relativa del 70%

Color: se midió por reflexión con un espectrocolorímetro (Minolta, CR-400). Se obtuvieron las coordenadas CIE-L*a*b*, y a partir de éstas se calcularon croma (Cab*) y tono (hab*).

Tasa de respiración de CO₂ (TR): se utilizó un método estático en un detector de CO₂ (Chopin)

Resistencia a la penetración se determinó con un penetrometro (Koehler K95500) con un tiempo de 5 s de penetración con una aguja, la profundidad se reportó en milímetros de penetración.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de la materia prima

Las muestras de las dos variedades híbridas estudiadas presentaron características muy similares que se muestran en la Tabla 1 para los parámetros de diámetro, longitud y peso.

Tabla 1. Dimensiones de variedades de chile ancho

Variedad	Diámetro (mm)	Longitud (mm)	Peso (g)
CORCEL	64.0±1.3	131.3±6.6	95.3±1.6
DON EMILIO	64.1±1.6	140.8±11.2	93.0±1.8

La tasa de respiración de CO₂ se determinó inmediatamente después de la cosecha y se registraron los valores de 29.1±2.9 y 32.5±3.6 para Corcel y Don Emilio, respectivamente no encontrándose diferencias de carácter significativo para ambas variedades.

En cuanto al color de los frutos de chile, no se encontraron diferencias en el parámetro de luminosidad (L*), = 26 para ambas variedades estudiadas, sin embargo, el componente b* (amarillo) (Corcel 3.8 y Don Emilio 8.7) y en el parámetro a* (verde) (Corcel - 2.3 y Don Emilio - 7.8) presentaron diferencias significativas a nivel p > 0.005, esto posiblemente ocasionado por la síntesis de compuestos de color como carotenos y la pérdida de clorofila (Corcel maduración chocolate y Don Emilio maduración a Rojo).

Efecto del tratamiento hidrotérmico en la calidad poscosecha de chile ancho

Los efectos de la aplicación de los ocho tratamientos hidrotérmicos a las dos variedades híbridas de chile ancho estudiadas se muestran en las Tablas 2 y 3.

Tabla 2. Efecto de la temperatura y tiempo de exposición en la calidad de chile ancho cv Corcel después de 30 días de almacenamiento a 8°C.

Penetración < 2 muy firme 2-3 firme > 3 suave
x la media de tres determinaciones
y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05
Se observa que para ambas variedades los tratamientos a temperaturas de 55 y 50°C son los que menos desórdenes fisiológicos provocan en los frutos, así como también son los que presentan una menor pérdida de peso con respecto al peso al inicio del almacenamiento

Tabla 3. Efecto de la temperatura y tiempo de exposición en la calidad de chile ancho cv Don Emilio después de 30 días de almacenamiento a 8°C.

Tratamiento	Pérdida de Peso (%)	Resistencia a la penetración (mm)	Daño (%)
Control	7.6 ^{cd}	4.6 ^{cd}	46 ^e
65°C - 30s	5.9 ^c	4.0 ^c	38 ^{de}
65°C - 45s	8.5 ^{cd}	4.7 ^{cd}	33 ^d
60°C - 45s	3.2 ^{bc}	2.4 ^b	18 ^{bc}
60°C - 60s	2.4 ^b	2.2 ^b	13 ^b
55°C - 120s	2.0 ^b	1.5 ^a	5 ^a
55°C - 180s	0.8 ^a	1.3 ^a	3 ^a
50°C - 240s	0.6 ^a	1.1 ^a	3 ^a
50°C - 300s	1.1 ^{ab}	2.4 ^b	10 ^b

Penetración < 2 muy firme 2-3 firme > 3 suave
x la media de tres determinaciones

y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

La aplicación de tratamientos a temperaturas superiores a 60°C provocó pérdidas de peso, pérdidas de firmeza (menor resistencia a la penetración, mayor distancia en mm) y mayores porcentajes de daños por lo que su uso no es conveniente ya que ocasiona un mayor estrés al fruto y consecuentemente una posible menor vida de anaquel para su comercialización en fresco. De acuerdo a la literatura, la disminución del peso fresco está asociada con el daño por frío (González-Aguilar et al., 2000), de modo que el uso de tratamientos de poscosecha tendientes a reducir la pérdida de agua debiera ser efectivo en la reducción de esta fisiopatía.

CONCLUSIONES

Del presente estudio se concluye que tratamientos hidrotérmicos, inmersión de frutos de chile (*Capsicum annuum*) en agua caliente temperaturas inferiores a 55 °C y por tiempos no superiores a 4 min. provocan un aumento en la vida de anaquel del producto y una posible reducción en el daño por frío independientemente del cultivar estudiado.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Aguascalientes por el financiamiento para el proyecto interno (PIAL 07-2) y al personal que labora en la Finca Piloto de Platicultura del Centro de Ciencias Agropecuarias de la UAA.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Cantwell, M. 2001. Pimiento (pimentón, chile dulce): recomendaciones para mantener la calidad postcosecha. Department of Vegetable Crops, University of California, Davis, CA 95616. Traducido por Farbod Youssefi, Department of Pomology, University of California, Davis, USA. Disponible en Available at: <http://postharvest.ucdavis.edu/Produce/Producerfacts/Es-panol/Pimiento.html>. Accessed on March, 2001.
- González-Aguilar, L., L. Gayoso, R. Cruz, J. Fortiz, R. Báez, and C.Y. Wang. 2000. Polyamines induced by hot water treatments reduce chilling injury and decay in pepper fruit. *Postharvest Biology and Technology* 18:19-26.
- Lurie, S. 1997. Postharvest heat treatments of horticultural crops. *Hortic. Rev.* 22:91-121.
- Meier, S., I. Rosenberg, Z. Aharoni, S. Grinberg, and E. Fallik. 1995. Improvement of the postharvest keeping quality and colour development of bell pepper (cv. 'Maor') by packaging with polyethylene bags at a reduced temperature. *Postharvest Biology and Technology* 5:303-309.
- Mencarelli, F., B. Ceccantoni, A. Bolini, and G. Anelli. 1993. Influence of heat treatment on the physiological response of sweet pepper kept at chilling temperature. *Acta Hort.* 343:238-243.
- Risse, L., D. Chun, and W. R. Miller. 1986. Chilling injury and decay of film-wrapped and conditioned bell peppers during cold storage. *Trop. Sci.* 27: 85-90.

DETERMINACIÓN DE MADUREZ ÓPTIMA DE UCHUVA EN POSTCOSECHA PARA ESTUDIOS DE DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA Y ALMACENAMIENTO

Pinzón, Magda Ivone
 UNIVERSIDAD DEL QUINDIO
 LABORATORIO DE INVESTIGACIONES EN POSTCOSECHA
 FACULTAD DE CIENCIAS AGROINDUSTRIALES
 Calle 12 Norte Carrera 15. E. mail: postcosecha@uniquindio.edu.co
 ARMENIA – COLOMBIA

Palabras clave: postcosecha, uchuva, propiedades fisicoquímicas, color, deshidratación osmótica

RESUMEN

En esta investigación se determinaron las características fisicoquímicas en frutos de uchuva, *Physalis peruviana* L., en siete estados de madurez en postcosecha, con el fin de seleccionar el más adecuado para propósitos de estudios de deshidratación osmótica por métodos combinados y almacenamiento en atmósfera modificada.

Se utilizaron frutos cosechados en cada uno de los siete estados de madurez; se sometieron a lavado, desinfección, secado superficial, clasificación por daño, madurez y calibre y se almacenaron en condiciones de refrigeración, 5 -6°C hasta su análisis.

Se evaluaron las características de peso, diámetros ecuatorial y axial, % de redondez, °Brix, pH acidez titulable (AT), densidad de pulpa, humedad, a_w , firmeza, color ($L^*a^*b^*$) y se calculó el índice de madurez (IM) para los estados de maduración 1 a 6 de la tabla de color establecida para este trabajo.

La evolución de cada uno de los parámetros analizados, sirvió para seleccionar el grado de madurez en postcosecha de la uchuva, adecuado para estudios de deshidratación osmótica por métodos combinados: aire caliente y liofilización y almacenamiento en atmósfera modificada.

INTRODUCCIÓN

La uchuva, *Physalis peruviana* L., es una fruta exótica que crece como una maleza en las altas y frías montañas de los Andes, de la familia Solanáceas y al género *Physalis*, cuenta con más de 80 variedades que se encuentran en estado silvestre, tanto perennes como anuales, y se caracterizan porque sus frutos se encuentran encerrados dentro de un cáliz. Rica en vitamina A y C, además de hierro y fósforo; usualmente se consume fresca; aunque también en jugo, como pasabocas y acompañante de cócteles. Se puede conservar a temperatura ambiente de 14°C a 18°C (Camacho, 2000).

El mercado internacional se provee de dos oferentes principales, Colombia y Zimbawe, y Colombia es el líder en este mercado Según la Corporación Colombia Internacional (CCI) la uchuva es uno de los más importantes productos agrícolas de exportación de Colombia, solicitada en los mercados de la Unión Europea, principalmente. Durante el año 2001 Colombia exportó un total de 8 millones de dólares en uchuvas, que corresponden a 2000 toneladas (Asohofruco y otros, 2002). Los principales mercados de esta fruta colombiana fueron Holanda, Alemania e Inglaterra. Las exportaciones de uchuva han crecido a una tasa del 9% anual promedio desde 1995 (El Tiempo, 2002). La uchuva colombiana se caracteriza por tener una mejor coloración y mayor contenido de azúcares, características que la hacen más apetecible en los mercados (Fischer y otros, 2000).

Aún después de la cosecha, las frutas continúan vivas „respirando“, madurando en algunos casos e iniciando procesos de senescencia, lo cual implica cambios estructurales, bioquímicos y de componentes específicos para cada fruta. Asimismo, el producto cosechado está constantemente expuesto a la pérdida de agua debido a la transpiración y a otros fenómenos fisiológicos. Como consecuencia de la maduración la fruta desarrolla características físico-químicas

que permiten definir distintos estados de madurez Durante su desarrollo y maduración las frutas experimentan cambios internos de sus componentes, que son más evidentes durante la

maduración de consumo, y que guardan una estrecha relación con la calidad y otras características de postcosecha del producto. Disminuye el color verde debido a una disminución de su contenido de clorofila y a un incremento en la síntesis de pigmentos de color amarillo, naranja y rojo (carotenoides y antocianinas) que le dan un aspecto más atractivo. Por lo general, la textura de las frutas cambia debido a la hidrólisis de almidones y pectinas, por la reducción de su contenido de fibra y por los procesos degradativos de las paredes celulares. Las frutas se tornan blandas y más susceptibles de sufrir daños mecánicos durante el manejo postcosecha. Además, pierde agua por transpiración de manera irreversible. Como consecuencia, el producto sufre una serie de alteraciones fisiológicas que aceleran los procesos de senescencia, síntesis de etileno y deterioro de tejidos (FAO, 1993).

Se realizaron estudios de caracterización física, morfológica y fisiológica; (Villamizar, 1993).

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales.

Se utilizaron frutos de uchuva, *Physalis peruviana* L. en cada uno de los siete estados de madurez establecidos en la tabla de color; provenientes de cultivos de la Sabana de Bogotá (Colombia), ubicada a una Latitud de: 3°42' - 5°81' norte y Longitud: 73°3' - 74°54' oeste, a 2600 msnm y 14°C de temperatura promedio.

Métodos

Tabla de color

Para seleccionar el estado de madurez óptimo de la uchuva para posteriores estudios de deshidratación osmótica, deshidratación por métodos combinados y almacenamiento en atmósfera modificada, se construyó una tabla de color, para lo cual se seleccionaron 7 estados de madurez: desde frutos de color verde fisiológicamente maduros (color 0) hasta frutos de color anaranjado intenso (color 7), con base en la Norma Técnica Colombiana NTC 4580 (ICONTEC, 1999).

Peso

El peso de cada fruto se determinó en una balanza analítica marca Precisa Modelo 40SM - 200 A, sensibilidad ± 0.00001 . Para determinar la humedad de los frutos frescos se utilizó una balanza de humedad marca PRECISA 310M SWISS Quality Precisa Ha 300, aplicando una temperatura de calefacción de 104°C, hasta peso constante. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

Forma geométrica

La forma geométrica se determinó midiendo los diámetros ecuatorial y axial de los frutos utilizando un micrometro marca Mitutoyo Absolute Digimatic, resolución: 0,01 mm; sensibilidad: $\pm 0,02$ mm. Se realizaron medidas a 33 frutos.

Firmeza

La firmeza de la pulpa se determinó utilizando un penetrómetro de reloj marca BERTUZZI Fruit Pressure Tester FT 327 con

escala de 0 a 13 Kg f N y precisión de 1,0 Kg f, con punta de 8 mm de diámetro. Con un cuchillo se retiró una sección de aproximadamente 15 mm², luego se procedió a introducir la punta del penetrómetro y se registró el valor de fuerza aplicada, indicado en la carátula. Esta operación se realizó a cada uno de los frutos tanto de uchuva evaluados.

pH.

Se aplicó el método (AOAC 918.12) utilizando un potenciómetro marca Metrohm 704 serie 01 con un electrodo de penetración Metrohm 6.0226. 100 pH 4-9/0-40°C para realizar una punción directa sobre el producto. Se realizaron tres medidas en cada una de las muestras de uchuva. El potenciómetro se calibró con solución tampón de pH 4 y 7 marca Merck

Sólidos solubles ó °Brix.

El contenido de sólidos solubles se determinó por el método refractométrico (AOAC 932.012) y se expresó como porcentaje de sólidos solubles o °Brix. El equipo se calibró con agua destilada. Se tomó una muestra de pulpa de uchuva y se colocó una gota sobre el prisma del refractómetro Mettler Toledo Refracto 30P escala de 0 a 85°Brix. Las lecturas se realizaron por triplicado, en cada caso se determinó la temperatura de la muestra.

Color

El color de la cáscara de los frutos de uchuva se midió por reflectancia utilizando un espectrocolorímetro portátil marca Minolta CM-10, con observador a 10° e iluminante D65. Se obtuvieron las coordenadas L*, a*, b* a partir del espectro de reflexión de las muestras, tomado sobre la superficie del fruto en diferentes puntos, se tomaron 10 medidas por fruto a 18 frutos y se promedió el resultado.

A partir de las coordenadas L* a* y b* se estimaron las coordenadas psicrométricas tono (h*_{ab}) y croma C*_{ab} aplicando las ecuaciones (1) y (2) (Rojas y otros, 2004)

$$h^*_{ab} = \arctg \frac{b^*}{a^*} \quad (1)$$

$$C^*_{ab} = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (2)$$

Actividad de agua (a_w)

La actividad de agua de frutos de uchuva se estableció empleando un equipo marca DECAGON Pa_w KIT Water Activity Meter calibrado con soluciones saturadas de NaCl 6.0 molal en agua (a_w 0.760 ± 0.003 marca Decagon) y de LiCl 13.41 molal en agua. (a_w 0.250 ± 0.003 marca Decagon), cuyo funcionamiento se basa en la medida de la actividad de agua de una muestra usando un sensor dieléctrico de humedad, sensibilidad de ± 0.02 a_w. Las mediciones se realizaron colocando una muestra de fruta fresca en la cámara. Una vez el equipo alcanzó el equilibrio se obtuvo el valor de actividad de agua y la temperatura del análisis (Decagon, 2001). Las medidas se realizaron por triplicado.

Diseño experimental.

El diseño estadístico fue enteramente casualizado, utilizando 25 frutas para la determinación de peso, 3 frutas y 3 repeticiones para la determinación de diámetro ecuatorial y diámetro axial, firmeza de la pulpa, actividad de agua, humedad, (a_w), pH, SST, acidez titulable, densidad de la pulpa. Para los resultados encontrados, se realizaron análisis de varianza y comparación de medias, mediante prueba de Duncan, a un nivel del 5% de probabilidad.

RESULTADOS

Teniendo en cuenta el tamaño, estado de madurez y ausencia de daños físicos y fisiológicos en la superficie del fruto, según apreciación visual, y los requisitos de madurez de la uchuva establecidos en la Norma Técnica Colombiana NTC 4580

(ICONTEC, 1999), se construyó la tabla de color que aparece en la Figura 1.

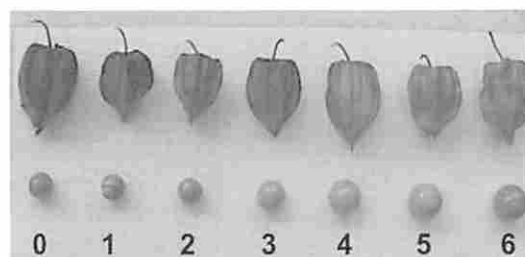


Figura 1. Carta de color de frutos de uchuva, *Physalis peruviana* L.

Puesto que en la literatura disponible no se encontraron reportes de algunas características fisicoquímicas de los frutos de uchuva en diferentes estados de madurez de consumo, se evaluaron el peso, °Brix, pH, acidez titulable (AT), firmeza y se calculó el índice de madurez (IM) (, Figura 1) para los estados de maduración 1 a 6 de la carta de color establecida.

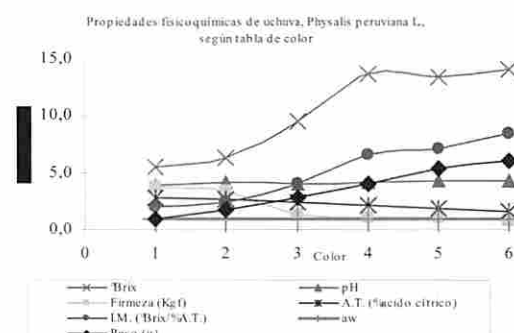


Figura 2. Evolución de las propiedades fisicoquímicas de frutos de uchuva, *Physalis peruviana* L., en diferentes estados de madurez, según tabla de color.

En la figura 2 se aprecia un aumento permanente del peso de los frutos. La disminución de la acidez titulable, expresada en % de ácido cítrico, coherente con el leve aumento del pH a medida que los frutos se tornan más amarillos hasta adquirir el color anaranjado en el estado 6, refleja reacciones metabólicas que tienen lugar a medida que avanza la maduración: degradación de almidón a azúcares sencillos y ácidos orgánicos no volátiles, y consiguiente aumento en los °Brix; valores que se reflejan en el Índice de Madurez (ÍM) que aumenta durante todo el tiempo de maduración y se considera el principal factor de calidad para comercialización en fresco y procesado. La firmeza de la pulpa disminuyó al avanzar la madurez, debido a la producción de agua por efecto de reacciones de hidrólisis de almidones a azúcares y ácidos, propios de estados avanzados de madurez (Seymour, et al., 1993)

Para describir de manera objetiva el color en cada estado de maduración y teniendo en cuenta que no se encuentran reportes en la literatura especializada, se evaluaron los cambios en las coordenadas CIEL*a*b*, a partir del espectro de reflexión de las muestras. En la figura 2 se representa la trayectoria del color que siguen los frutos de uchuva a medida que avanza la maduración desde tonos verdes, correspondientes a valores negativos de (a*) en los estados de madurez 1-2, hacia tonos amarillos y anaranjados (b*), con incremento de la pureza del color anaranjado en el estado de madurez 6.

En los estados 1 y 2 de maduración, el matiz, h° representó frutos de color verde que aumenta a colores amarillo, amarillo-anaranjado, hasta estabilizarse en el color 5, que corresponde a un color anaranjado y con un descenso notorio de la luminosidad a medida que el fruto madura (figura 3).

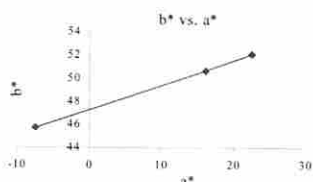


Figura 2. Ubicación en el plano cromático a^*b^* , de la trayectoria del color de la piel de uchuva en diferentes estados de maduración en postcosecha.

El croma (C^*), que representa lo llamativo o apagado del color, inicialmente alto, disminuye hasta estabilizarse en el color 5 de madurez indicando un color más saturado, coherentemente con la disminución de la luminosidad L^* cuando los frutos se encuentran completamente maduros.

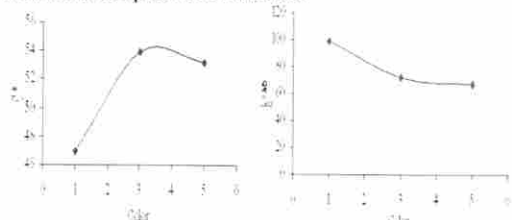


Figura 3. Evolución del croma (C^*) y el ángulo del matiz (h°) de cada una de las muestras de frutos de uchuva frescas en cada estado de maduración

Con base en estos resultados se estableció que frutos de color 5, cuyas características físicas y fisicoquímicas analizadas aparecen en la tabla 1, eran óptimos para realizar los estudios de deshidratación osmótica, deshidratación osmótica por métodos combinados con secado por aire caliente y conservación en atmósfera modificada. Frutos con estados de madurez menores de 3 presentaron texturas muy firmes y menor contenido de sólidos solubles y frutos en estado de madurez 6 presentaron texturas demasiado blandas que no permitían una manipulación adecuada para procesado.

Tabla 1 Características físicas y fisicoquímicas de frutos frescos de uchuva, en estado de madurez 5

Característica	Valor	Característica	Valor
Peso fruto	4,45 g	Humedad	86,29%
Diámetro ecuatorial	19,33 mm	a_w	0,98
Diámetro axial	18,95 mm	pH	4,0
Redondez	95,6 -98%	Acido cítrico	1,89%
Firmeza de pulpa	0,8 Kg _f	°Brix	14,3
Densidad de pulpa	1,05 g/cc	IM	7,9
Color CIE	L^*	62,60	
	a^*	21,03	
	b^*	49,88	
	C^*	53,15	
	h°	67,23	

De acuerdo con la Norma Técnica Colombiana NTC 5480 los frutos de uchuva seleccionados para procesado (color 5) se clasificaron en categoría 1, ya que cumplieron con todos los requisitos generales en cuanto a forma esférica, estado de sanidad óptimo, libre de ataques de insectos y/o enfermedades, color homogéneo de acuerdo con el estado de madurez seleccionado, aspecto fresco y consistencia firme, corteza lisa y brillante, libres de humedad externa anormal, exentos de olor, o sabor extraño, exentos de materias extrañas (ICONTEC, 1999)

CONCLUSIONES

Se establecieron las características fisicoquímicas, peso, diámetros ecuatorial y axial, porcentaje de redondez, firmeza, humedad, a_w , pH, % AT, |Brix, IM y coordenadas de color CIEL*a*b* de uchuva en 7 estados de maduración en postcosecha. Se seleccionó el estado de madurez 5 de la tabla de color, ya que frutos menos maduros presentaron textura muy firme, mayor acidez y menor contenido de °Brix y en color 6 la textura de la uchuva fue demasiado blanda para manipulación durante procesado, para desarrollar estudios de cinética de deshidratación osmótica y por métodos combinados con secado por aire caliente y liofilización, como alternativa para la utilización de segundas por calibre y madurez y dar valor agregado a esta fruta tropical de alta demanda en el mercado exportador.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad del Quindío, Facultad de Ciencias Agroindustriales, Laboratorio de Investigaciones en Postcosecha, Armenia, Colombia.

BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS

- Asohfrucol, Asociación Hortofrutícola de Colombia; Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Fondo Nacional de Fomento Hortofrutícola, FNFH. 2002. "Acuerdo de Competitividad de Productos Hortofrutícolas Promiseros Exportables en Colombia". Bogotá D.C., Colombia. Editorial Prodimedios. 77 p.
- Camacho, G. 2000. "Procesamiento de la uchuva" (*Physalis peruviana*). Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos ICTA, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. 50 p.
- Decagon Devices, Inc. 2001. "Operador's Manual. pa_wkit water activity meter". Pullman, WA, USA.
- El Tiempo. 2002. "Tierras y ganados: US\$8 millones en uchuvas". Sábado 14 de septiembre. Colombia. Pág.1, 8.
- Fischer, G; Flórez, V, Sora, A. 2000. "Producción, poscosecha y exportación de la uchuva". Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía. Bogotá, Colombia, pág. 11.
- ICONTEC, Instituto Colombiano de Normas técnicas y Certificación. 1999. "Norma Técnica Colombiana NTC 4580". Frutas Frescas. Uchuva. Especificaciones. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC) Bogotá D.C. Colombia.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). 1993. Prevención de pérdidas de alimentos poscosecha: frutos, hortalizas, raíces y tubérculos. Colección FAO: Capacitación, N° 17/2. Roma, Italia. 183 p.
- Pinzón M. I., (2000). "Evolución en la composición y propiedades físicas durante el crecimiento y maduración de híbridos de lulo (*Solanum quitoense* Lam.)". Tesis doctoral, Departamento de Tecnología de Alimentos, Universidad Politécnica de Valencia, España.
- Rojas, A., Arango, L. y Pinzón, M.I. 2004. "Evolución del color, la pérdida de agua y la ganancia de solutos durante la cinética de osmódeshidratación con pulso de vacío de tomate de árbol". Revista de Investigaciones., 14: 9 – 14. Universidad del Quindío, Armenia, Colombia.
- Seymour, G. B., Taylor, J. E., Tucker G. A. (1993). Biochemistry of fruit ripening. Edit. Chapman and Hall. London. p. 171.
- SIESA. 2001. Sistema de Información Estratégica del Sector Agroalimentario: Información tecnológica, cultivo: uchuva. Septiembre 11. Pág.: 1-12
- Villamizar, F.; Ramírez, A.; Meneses, M. (1993). Estudio de la caracterización física, morfológica y fisiológica postcosecha de la uchuva *Physalis peruviana* L. Revista AGRO-Desarrollo. 4(1-2) 305-320

EFECTO DEL HIDROENFRIAMIENTO Y LA TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO SOBRE LA CALIDAD POSTCOSECHA DE COCONA (*Solanum sessiliflorum* Dunal)

Ramírez, Santiago^{1,*}; Quispe-Condori, Sócrates¹; Ruales, Jeny²

¹Universidad Peruana Unión. Centro de Investigación en Ingeniería de Alimentos.

Casilla 3564, Carretera Central Km. 19.5, Ñaña, Lima – Perú, tiagoramirezl@gmail.com

²Universidad Politécnica Nacional. Departamento en Ciencias y Biotecnología de Alimentos

J. Rubén Orellana R. / Ladrón de Guevara E11 253 & Andalucía, Quito – Ecuador

Palabras Claves: Ingeniería de alimentos; postcosecha; hidrogenfriamiento; cocona.

RESUMEN

Fue estudiado la influencia del hidrogenfriamiento y la temperatura de almacenamiento sobre las propiedades fisico-químicas de cocona (*Solanum sessiliflorum* Dunal). Dos tratamientos (con – sin preenfriamiento) a dos niveles de temperatura de almacenamiento (11 y 20 °C) fueron aplicados para evaluar la variación del peso, diámetro del producto, acidez titulable, pH, color externo, firmeza, contenido de sólidos solubles totales, tasa de respiración (TR) y textura. Los resultados mostraron que la tasa de respiración es el precursor de los principales cambios fisico-químicos del producto, siendo más pronunciado en las muestras preenfriadas. Para ambos tratamientos se observaron pérdidas de peso significativas. El color muestra tendencias de variación en cuanto a la saturación, observándose un descenso pronunciado de la luminosidad, relacionado con la pérdida de humedad. Las características de producto fresco se mantienen estables durante 17 y 28 días en almacenamiento a 20 y 11 °C, respectivamente.

INTRODUCCIÓN

La cocona (*Solanum sessiliflorum* Dunal) es una planta nativa, que crece de manera silvestre en regiones amazónicas de Brasil, Perú, Ecuador, Colombia y Venezuela (PROMPEX, 1998; Melgarejo y otros, 2003; Da Silva, 1998). La cocona es valorizada por su capacidad de sanar enfermedades de la piel y el jugo es usado para controlar el exceso de ácido úrico y otras enfermedades causadas por el mal funcionamiento de los riñones e hígado (Salik, citado por da Silva 1998). También es recomendada en la dieta de pacientes hipercolesterolémicos e hiperglicémicos (Yuyama, citado por da Silva 1998). En la industria de alimentos, este fruto es utilizado en la preparación de jugos, dulces, mermeladas, compotas y salsa (Da Silva, 1998).

Por ser considerado un producto amazónico con potencial comercial, es necesaria la aplicación de diversas tecnologías a fin de incrementar su producción y conservación. Sin embargo, debido a la falta de selección del producto y su manipulación poco cuidadosa, y por la carencia de sistemas adecuados de enfriamiento y mantenimiento de la temperatura de almacenamiento, ocurren daños estructurales, alteraciones microbiológicas y enzimáticas, cambios fisiológicos no deseados, modificación de la composición y evaporación del agua intercelular (Wills, 1998). Así, el producto pierde su valor comercial, y consecuentemente ocurren pérdidas económicas.

Una de las técnicas aplicadas a diversas frutas, luego de ser cosechadas, es el preenfriamiento. Esta técnica, se encarga de retirar el calor de campo en los primeros 20 – 30 min (Brosnan y Wen Sun, 2000). Posteriormente, las frutas son transportadas y/o almacenadas, a temperaturas menores con el objetivo de reducir las reacciones químicas y bioquímicas, provocadas por la respiración, pérdida de agua, desarrollo de microorganismos, producción de etileno y daño por frío (CNP, 2001).

El presente trabajo tiene por objetivo estudiar el efecto del hidrogenfriamiento y las distintas temperaturas de almacenamiento sobre la variación de las propiedades fisico-químicas de cocona, determinando las condiciones adecuadas de tratamiento y almacenamiento postcosecha.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los frutos de cocona, cultivados en la ciudad del Coca – Ecuador, fueron recolectados manualmente, a una temperatura de 32 °C. Los frutos fueron seleccionados en función del estado de madurez de consumo. Un grupo (5 kg) fue preenfriado por hidrogenfriamiento convencional hasta 11 °C, tal como descrito por Brosnan y Wen Sun (2000). Posteriormente, ambos grupos fueron desinfectados y almacenados a las temperaturas de 11 y 20 °C.

Caracterización Físico – química

Los análisis (pérdida de peso, variación del diámetro, firmeza, acidez titulable, pH, color, sólidos solubles totales) fueron destructivos, con excepción del análisis de tasa de respiración (TR). Cada análisis fue realizado por quintuplicado. El intervalo de los análisis fue de 7 días, con excepción de la TR (2 días). El análisis estadístico fue realizado con el software STATISTICA 7.1 (Statsoft Inc. USA).

Pérdida de peso

Se evaluó en función del peso inicial y final usando una balanza electrónica (BOECO, modelo BBA51, precisión ± 0.01). Los resultados fueron presentados como porcentaje de pérdida (%).

Variación de diámetro

Fue medido el diámetro inicial y final del producto usando un calibrador (precisión 0.25 mm). Los resultados fueron presentados como porcentaje de variación (%).

Firmeza

Para la medición fueron retiradas las cáscaras del fruto. Fue utilizado un penetrómetro manual (McCormick, modelo FT 327, con puntal de 7 mm de diámetro) y los valores fueron reportados en Newtons (N)

Acidez titulable, pH y Sólidos solubles

La acidez titulable fue determinada según el método de la A.O.A.C. 942.15 (2000) expresando en función del ácido cítrico monohidratado ($f = 0.070$). La medida del potencial de hidrógeno fue realizada en el jugo de cocona usando un potenciómetro (ORION 210A). Los sólidos solubles fueron medidos con un refractómetro.

Color externo

Fue utilizado el sistema CIELAB, tal como presentado por Jiménez y Gutiérrez (2001). Los parámetros L*, a*, y b* fueron medidos usando un colorímetro (MINOLTA CR 200) y posteriormente fueron calculados el ángulo de tono (H), croma (C) y la diferencia de color (ΔE).

Tasa de respiración

Fue usado un analizador rápido de gases (Post Harvest Research modelo VIA- 510), provisto de un detector infrarrojo (Horiba). Fueron utilizadas tres cámaras, y en cada una fueron

depositados entre 700 y 800 gr de cocona. El aire suministrado fue de 270 ml/min y 78 ml/min, en las cámaras a 20°C y 11°C, respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la variación de las propiedades fisico-químicas de la cocona durante el tiempo de almacenamiento son presentados en la Tabla 1. El ANOVA para todas las propiedades se presentan en la Tabla 2.

Porcentaje de pérdida de peso (%)

Los datos muestran que para todos los tratamientos existe una variación negativa, altamente significativa, de la pérdida de peso (Tabla 2). Esta variación puede ser explicada por la transpiración excesiva del fruto, observada experimentalmente. La mayor variación es observada en la condición CP-20 °C, confirmando que las variaciones de temperatura son perjudiciales en la calidad del producto. Las menores variaciones son observadas en productos que no fueron pre-enfriados. Resultados similares fueron presentados por Hernández y otros (2004). Es obvio, que independientemente de los tratamientos aplicados, existe una tendencia de pérdida de calidad del producto. Conceptualmente, la temperatura retarda los procesos de transpiración; sin embargo, debido a los daños generados por el preenfriamiento, existe una pérdida de peso. Sankat y Maharaj (1995) explican que esta pérdida podría ser reducida con la aplicación de recubrimientos y/o empaques.

Porcentaje de variación del diámetro (%)

Esta variación está relacionada directamente con la pérdida de humedad, debido a la contracción de la fruta por la pérdida de

humedad. Así, los mismos comportamientos son esperados para este parámetro. Los mayores porcentajes de variación son observados para los tratamientos almacenados a la temperatura de 20 °C. Los productos tratados con preenfriamiento muestran una mayor variación en relación a los tratados sin preenfriamiento (ver Tabla 2).

Firmeza

La firmeza del producto es un criterio de calidad que el consumidor y productor evalúan durante su comercialización. Para ambas temperaturas de almacenamiento, el preenfriamiento afectó de manera significativa la firmeza del producto. Los productos almacenados a 20 °C y sometidos a preenfriamiento, presentan una mayor disminución de la firmeza. Los cambios drásticos de temperatura modifican la estructura de la piel, posibilitando la pérdida de agua. Por otro lado, el aumento de temperatura tiene un efecto negativo sobre la firmeza del producto. Comportamientos similares fueron observados por Hernández y otros (2004) para las temperaturas de 7 y 11 °C. Con el aumento de la temperatura existirá una mayor actividad enzimática sobre las celulosas, hemicelulasas y pectinas, y consecuentemente una disminución de la firmeza.

Acidez, pH y SST

Para todos los tratamientos existe una disminución de la acidez, siendo más significativa para en el periodo de 14 a 21 días. Este periodo corresponde al estado de maduración. Así, existe una disminución en los ácidos orgánicos, debido a su transformación en azúcares. Los productos sin preenfriamiento y almacenados a 11 °C no presentan variaciones significativas hasta el día 14.

Tabla 1 – Variación de las propiedades físico – químicas de la cocona durante el almacenamiento.

Factor (días)	% Pérdida de Peso	% Var. Diámetro	Firmeza (N)	Acidez	pH	SST
0	-----	-----	37,7 ± 8,6	2,07 ± 0,14	3,39 ± 0,03	5,64 ± 0,3
SP – 20 °C						
7	2,4 ± 0,2	0,3 ± 0,2	37,7 ± 6,3	2,3 ± 0,2	3,53 ± 0,12	6,48 ± 0,5
14	7 ± 1	2,3 ± 0,4	30,4 ± 7,2	2,22 ± 0,07	3,42 ± 0,02	6,1 ± 0,2
21	7,3 ± 0,5	4 ± 3	32,9 ± 9,2	1,8 ± 0,2	3,55 ± 0,12	5,85 ± 0,4
SP – 11 °C						
7	2,2 ± 0,5	1,2 ± 0,5	49,4 ± 9,9	2,08 ± 0,19	3,65 ± 0,05	6,4 ± 0,32
14	4,2 ± 0,7	1,5 ± 0,8	42,9 ± 4,6	2,04 ± 0,15	3,44 ± 0,03	6,04 ± 0,38
21	6,4 ± 0,8	3,2 ± 0,6	33,9 ± 5,7	1,8 ± 0,2	3,52 ± 0,03	6,12 ± 0,46
28	9,3 ± 1,4	5,4 ± 0,4	31,07 ± 5,26	2,3 ± 0,2	3,41 ± 0,04	6,3 ± 0,4
35	11,6 ± 2	5 ± 1	29,14 ± 4,02	2,05 ± 0,19	3,42 ± 0,05	6,5 ± 0,4
CP – 20 °C						
7	2,6 ± 0,5	0,6 ± 0,4	57,1 ± 4,8	2,1 ± 0,2	3,66 ± 0,06	6,04 ± 0,09
14	10,06 ± 1,33	3,9 ± 0,3	26 ± 11	2,18 ± 0,12	3,43 ± 0,06	5,97 ± 0,14
21	12,2 ± 3	5 ± 2	26,9 ± 1,1	1,77 ± 0,11	3,58 ± 0,11	5,88 ± 0,22
CP – 11 °C						
7	3,04 ± 0,61	0,7 ± 0,6	50 ± 15	1,9 ± 0,2	3,53 ± 0,23	6,84 ± 1,06
14	7 ± 2	2,2 ± 0,6	30,5 ± 6,9	2,15 ± 0,34	3,34 ± 0,18	4,34 ± 1,45
21	10 ± 4	4 ± 1,6	22,6 ± 7,4	1,97 ± 0,12	3,48 ± 0,07	5,6 ± 0,1
35	18 ± 3	8,6 ± 1,8	25,5 ± 4,6	1,83 ± 0,13	3,34 ± 0,06	5,47 ± 0,13

Tabla 2 – Resumen del Análisis de Varianza de los principales efectos e interacciones de los tratamiento en el tiempo.

Tratamiento	% Pérdida de peso	% Var. de diámetro	Firmeza (N)	Acidez	pH	SST
CP - 20 °C	**	**	**	**	**	NS
CP - 11 °C	**	**	**	NS	NS	*
SP - 20 °C	**	NS ^a	NS	**	*	*
SP - 11 °C	**	**	**	*	**	*

^aNS, no significativo; * Significativo a 0.05; ** Significativo a 0.01

Para todos los tratamientos, la acidez y el pH se relacionaron de forma inversa durante el periodo de 14 – 21 días. El aumento del pH y la disminución de la acidez se deben a la metabolización de los ácidos orgánicos. Por otro lado, los sólidos totales tienden a aumentar hasta su maduración. Posteriormente, éstos son degradados por los microorganismos.

Color

En la Figura 1 se presenta los resultados de tonalidad (H) para todos los tratamientos. Comportamientos similares fueron presentados para Luminosidad (L) y Cromo (C). De forma general, se observa un descenso en todos los parámetros (L, H y C) hasta los días 14 y 21, para los productos almacenados a 20 y 11 °C, respectivamente; siendo más pronunciados para L y H. Este descenso se debe a la pérdida de humedad, tal como reportado por Valencia y Beltrán (2003). Luego de estos periodos, se observa un aumento en los valores de L, H y C. Esto se debe a la aparición de fenómenos de senescencia y deterioro. Hernández y otros (2004) afirman que la modificación del color se debe a alteraciones microbiológicas y bioquímicas.

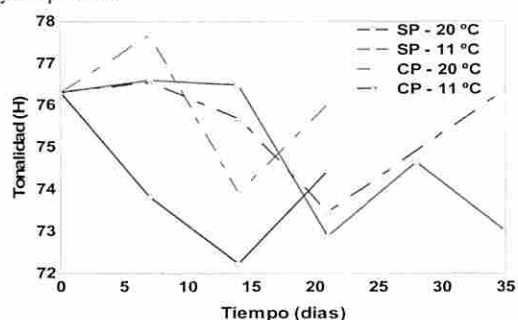


Figura 1. Variación en el ángulo de tono (H)

Para cuantificar la diferencia del color entre dos muestras fue utilizada la Ecuación (1), presentada por Jiménez y Gutiérrez (2001):

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{0.5} \text{ (Ecuación 1)}$$

Los resultados son presentados en la Figura 2. Para todos los tratamientos, se observa el mismo comportamiento discutido anteriormente.

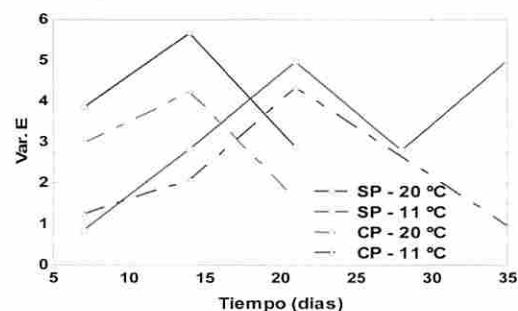


Figura 2. Variación del valor E

Tasa de Respiración

Los resultados son presentados en la Figura 3. La tasa de respiración se relaciona directamente con las modificaciones físico-químicas de cualquier fruta. Para los frutos de cocona almacenados a 20 °C se observa una disminución en la tasa de respiración. Sin embargo, después del día 24 se observa un ligero incremento en la tasa de respiración. Este comportamiento está relacionado directamente con la aparición de alteraciones microbiológicas y bioquímicas. Díaz-Pérez (1999) observaron que los cambios de la textura, color e incremento de los sólidos solubles están asociados al incremento en la tasa de respiración.

Por otro lado, a 11 °C, se observan valores de tasa de respiración aproximadamente constantes, siendo mayores para los frutos preenfriados. El máximo valor de tasa de respiración (28 mg de CO₂/Kg.h) fue determinada para el tratamiento CP-20 °C.

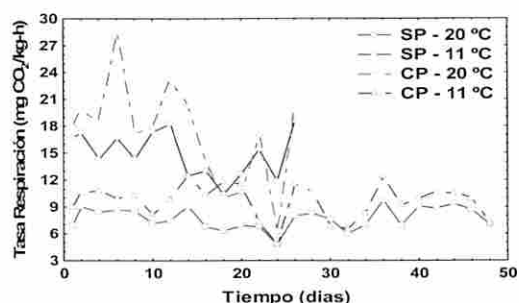


Figura 3. Variación de la tasa de respiración

CONCLUSIONES

La cocona presenta incrementos en sus propiedades físico-químicas durante los cinco primeros días de almacenamiento. Luego, se observa una maduración a distintas velocidades, dependiendo principalmente de la temperatura de almacenamiento. La tasa de respiración es precursora de las modificaciones en las principales características físico-químicas de la cocona. A pesar de observarse tendencias similares, los frutos almacenados a temperaturas menores (11 °C) aumentan la estabilidad de las características físico-químicas. El hidrogenfrío no mejoró significativamente el tiempo de almacenamiento de la cocona.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A.O.A.C. 2000. Official Methods of Analysis, 942.15.
- Brosnan T., Wen Sun D. 2000. Precooling techniques and applications for horticultural products - a review. *International J. of Refrigeration* (24) 154 – 170
- Consejo Nacional de Producción. 2001, Diciembre. Rol de la temperatura en el almacenamiento de productos frescos. San Jose de Costa Rica: Geovanny Carmona. 17 p
- Da Silva D. 1998. Cocona (*Solanum sessiliflorum* Dunal) cultivo y utilización. Caracas. 105 p.
- Díaz-Pérez J., Bautista S., Villanueva R. 1999. Quality changes in sapote many fruit during ripening and storage. *Postharvest Biology and Technology* 18 (2000) 67–73.
- Hernández, M.S., Barrera, J.A., Páez, D., Oviedo-Ardila, E., Romero-Rubio, H. 2004. Aspectos biológicos y conservación de frutas promisorias de la Amazonia Colombiana. Instituto SINCHI.
- Jiménez A., Gutiérrez G. 2001. Métodos para medir propiedades físicas en Industria de Alimentos.
- Melgarejo T.A., Fribourg C.E., Russo M. 2003. Properties of a tomosvirus that infects cocona (*solanum sessiliflorum*) in the peruvian jungle. *J. of Plant Pathology*, 85 (2), 105-110.
- Oficina de la Promoción para la Exportación. 1998. Promoción de Exportaciones de Productos Agrícolas de la Selva. Marco orientado para promover la inversión en cultivos alternativos destinados a la exportación. Lima-Perú. 91-100.
- Sankat C., Maharaj V. 1995. Shelf life of the green herb "shado beni" (*Eryngium foetidum* L.) stored under refrigerated conditions. *Postharvest Biology and Technology* 7 (1996) 109-118.
- Valencia S., Beltrán E. 2003. Manual Postcosecha de Babaco. Quito. Gráficas Guimar.
- Wills R. 1998. Introducción a la fisiología y manipulación postcosecha de frutas y hortalizas y plantas ornamentales. 2ª edición. Trad. Burgos J. Zaragoza-España. Editorial Acribia.

MODIFICACIÓN DE LA ATMÓSFERA INTERNA EN EMPAQUES DE LECHUGA DE HOJA PRODUCIDAS POR CULTIVO ORGÁNICO Y SU EFECTO EN LA CALIDAD DEL PRODUCTO

Velásquez Susana¹, Pólit Pablo¹, Suquilanda Manuel².

¹DECAB, Escuela Politécnica Nacional.

Pasaje Andalucía s/n. Tlf: (593 2) 2507 138. Fax: (593 2) 2507 142

² Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Central del Ecuador (UC)

susana_velasquez77@hotmail.com; ppolit@server.epn.edu.ec.

Palabras clave: Tecnología, Almacenamiento y poscosecha, atmósferas modificadas, empaque, lechuga.

RESUMEN

Se estudió la evolución de la calidad durante el almacenamiento de tres variedades de lechuga de hoja producidas por cultivo orgánico en Quito, Ecuador. Las lechugas se empacaron en fundas selladas de polietileno de baja densidad perforado (PE), polipropileno (PP) y peak fresh (PF) y se almacenaron a 4°C y 94% de humedad relativa durante 21 días. Durante el período de almacenamiento se determinó la concentración de O₂ y CO₂ en el interior de los empaques, pérdida de peso, y calidad visual. Los empaques PF y PP modificaron la atmósfera interna sin causar anaerobiosis u otros daños fisiológicos, evitaron la deshidratación y permitieron mantener las características de calidad alargando así la vida útil comercial de las lechugas hasta 14 días, considerándose que pueden ser consumidas hasta los 21 días.

INTRODUCCIÓN

El uso de atmósferas controladas (AC) y modificadas (AM) que implican disminuir las concentraciones de O₂ y elevar las de CO₂, se consideran como un complemento al manejo adecuado de la temperatura y humedad relativa para prolongar la vida de almacenamiento (Artés, 2000). Para la lechuga en general se recomienda concentraciones de CO₂ del 0% (Cantwell, 2001) y hasta 2% para transportes prolongados (Hardenburg *et al.*, 1990).

La lechuga romana y la lechuga de hoja toleran niveles ligeramente más altos de CO₂ que la lechuga de cabeza cuando están empacadas. Concentraciones entre 1 y 8% de O₂ ayudan a controlar eficazmente el manchado canela (russet spotting), en tanto concentraciones de O₂ menores al 1% pueden causar efectos perjudiciales porque se produce respiración anaeróbica y fermentación (Hardenburg *et al.*, 1990).

Los polímeros más utilizados para el empaque en AM son el polietileno de baja densidad (PE) y el polipropileno (PP), que se caracterizan por sus buenas propiedades como barrera al vapor de agua, su permeabilidad relativamente alta a los gases y su buena respuesta al sellado térmico (Alique, 2000). En el mercado se comercializa PEAKfresh (PF) que es una película de PE impregnada con minerales. El mineral impregnado es higroscópico, posee propiedades absorbentes de etileno y modifica la permeabilidad de la película a los gases (Flexo Fama, 2007).

Para evaluar la calidad se utilizan criterios internos como la textura, sabor, aroma y el valor nutritivo y criterios externos como el tamaño, color, forma, y la carencia de defectos, estos últimos son determinantes de la calidad, por ser con frecuencia los únicos que sirven al consumidor para juzgar al producto (Wills *et al.*, 1998).

El presente trabajo estudió el comportamiento de tres variedades comerciales empacadas en tres envases diferentes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron lechugas de las variedades Green Salad Bowl, Red Salad Bowl y Romaine EM-413. La producción orgánica se la realizó en el área de Agricultura Alternativa del Centro Académico Docente La Tola de la Universidad Central del Ecuador situado a 2465 msnm.

La cosecha se la efectuó manualmente, se realizó una preselección en campo, se aplicó un primer lavado por aspersión con agua, un segundo lavado por inmersión en una

solución de "citrex" (extracto de semilla de toronja) al 0.2 % para desinfectar al producto y se aplicó pre enfriamiento por inmersión en agua helada.

Se estudió el comportamiento de las lechugas empacadas en fundas de PE de 46 µ con perforaciones de 6mm que abarcan el 2% del área y en atmósfera modificada pasiva empleando fundas de PP de 50 µ y PF de 38 µ. Cada empaque contuvo alrededor de 150 g de lechuga en un volumen de 1.5 litros de aire. Se adaptó un séptum de silicona en las fundas para permitir la toma de muestras de la atmósfera interna usando jeringuillas de 1 ml. Los análisis se realizaron tomando dos muestras de cada funda con tres repeticiones por cada tipo de empaque. Las concentraciones fueron medidas en un analizador rápido de gases *Post Harvest Research* modelo VIA- 510, provisto de un detector infrarrojo Horiba para CO₂ y un detector Thermox CG1000 con celda electroquímica de óxido de zirconio para O₂.

Se estudió la pérdida de peso de la lechuga durante el almacenamiento, determinando la diferencia entre el peso inicial (peso en el día 0) y el peso en los respectivos días de análisis. Se la expresa como porcentaje de pérdida de peso.

Para determinar la calidad de la lechuga se empleó una escala de 1 a 9 calificando la calidad visual, la decoloración del tallo, el marchitamiento (turgencia) y otros defectos según recomendación de Kader *et al.* (1973) (tabla 1) y calculando el promedio de los cuatro valores (tabla 2). Los análisis se realizaron en los días 1, 3, 7, 10, 14, 17, y 21.

Tabla 1. Evaluación de la calidad de la lechuga

Ponderación	CALIDAD VISUAL
9	Excelente (esencialmente libre de defectos)
7	Bueno (defectos menores, no objetable)
5	Aceptable (defectos ligeros a moderados)
3	Pobre (excesivos defectos; en el límite de la comercialización)
1	Extremadamente pobre (rechazable)
DECOLORACIÓN DEL TALLO	
9	Ninguna
7	Discreta
5	Moderada
3	Severa
1	Extrema (muy negro)
MARCHITAMIENTO	
9	Ninguno (Apariencia fresca, turgente)
7	Leve (ligera pérdida de turgencia)
5	Aceptable (Pérdida moderada de turgencia)
3	No aceptable (textura floja)
1	Rechazo total (Marchita)
OTROS DEFECTOS (daños mecánicos, patológicos y manchas pardas)	
9	Ninguno
7	Discreto
5	Moderado
3	Severo
1	Extremo

Tabla 1. Escala de valoración de la calidad final de la lechuga

CALIFICACIÓN TOTAL	CLASIFICACIÓN
De 7 a 9	A
Entre 5 y 7	B
Menor que 5	No comercializable (NC)

Los resultados se evaluaron mediante un análisis de varianza de una vía (ANOVA ONE WAY), utilizando el programa STATGRAPHICS Plus for Windows 5.1 (Statistical Graphics System, Statistical Graphics Corporation), con la prueba de mínima diferencia significativa (LSD intervals) y límites de confiabilidad de 95%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1, se presenta la variación de peso de la lechuga Green Salad Bowl en diferentes empaques durante el almacenamiento. Las lechugas sin empaques y empacadas en fundas de PE perforado se deshidratan rápidamente a partir del primer día de almacenamiento alcanzando valores superiores al 20%, en cambio los empaques PF y PP permiten mantener la deshidratación dentro de los límites recomendados por Wills et al. (1998) que indican que pérdidas superiores al 5% producen un deterioro irreversible de la calidad comercial y sensorial. Las variedades Red Salad Bowl y Romaine EM-413 presentan un comportamiento similar.

En la figura 2 se presenta la variación de las concentraciones de O₂ y CO₂ de las tres variedades de lechuga durante el almacenamiento en los empaques de PF y PP. La concentración de CO₂ en el interior del empaque de PP tiende a aumentar hasta el día 7 y mantenerse en valores de alrededor de 10% hasta el día 14 cuando empieza a disminuir, llegando a valores entre 3 y 6%. Este comportamiento se puede explicar debido a que lechuga empieza a senescer en los últimos días de almacenamiento disminuyendo su intensidad respiratoria y por ende la producción de CO₂. Los altos niveles de acumulación de CO₂ en las fundas PP, contrariamente a lo indicado en la bibliografía, no causaron manchas pardas ni otros daños fisiológicos en las lechugas. En el empaque PF, debido a la naturaleza del empaque (mayor permeabilidad a la transferencia de gases) la concentración de CO₂ tiende a mantenerse en valores entre 1 y 3%.

En el empaque de PP la concentración de O₂ disminuye hasta el día 7 llegando a valores aproximados de 6% manteniéndose estable hasta el día 14, y empieza a incrementarse hasta alcanzar valores de 9% al final del almacenamiento. En este empaque, la concentración de O₂ es inversamente proporcional a la concentración de CO₂. Las bajas concentraciones de O₂ no causaron sabores anómalos según se evidenció por análisis sensorial, pese a estar cercanos al umbral crítico reportado generalmente en la bibliografía. En el empaque PF por la razón mencionada anteriormente, la concentración de O₂ tiende a mantenerse en valores cercanos al 18%.

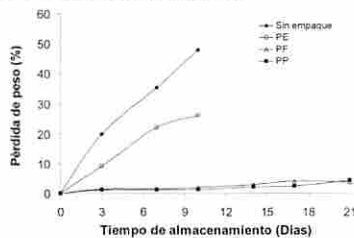


Figura 1. Variación del porcentaje de pérdida de peso en la lechuga variedad Green Salad Bowl en distintos empaques.

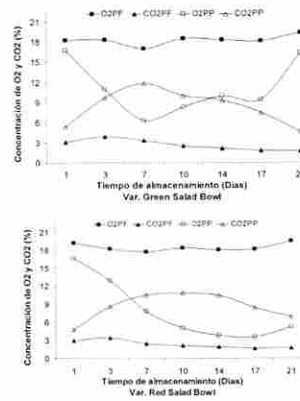
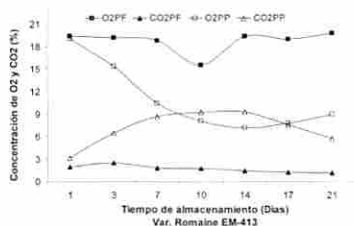


Figura 2. Variación de la atmósfera interna (CO₂ y O₂) en distintos empaques de lechuga.

En la tabla 3 se presenta los resultados de la evaluación final de la calidad de la lechuga durante el almacenamiento. Las lechugas empacadas en PE perforado y las lechugas sin empaque se deterioran más rápido que aquellas que están empacadas en fundas de PP y PF, debido principalmente a la deshidratación que influye directamente en los parámetros de calidad valorados.

Las lechugas empacadas en PE perforado y sin empaque, son aptas para la comercialización hasta el día 3 de almacenamiento, mientras que las empacadas en PF y PP conservan su calidad de comercialización hasta alrededor del día 14 y calidad apta para consumo hasta el día 21.

Tabla 3. Valoración de la calidad final de la lechuga

Días	Sin empaque	PF	PE	PP
0	A	A	A	A
3	B	B	B	B
7	NC	B	NC	B
10	NC	B	NC	B
14		B		B
17		NC		B
21		NC		NC

CONCLUSIONES

Los empaques PF y PP modificaron la atmósfera interna de las lechugas sin causar anaerobiosis u otros daños fisiológicos evitando la deshidratación y manteniendo el color y las otras características de calidad, alargando así la vida útil comercial de las mismas.

Si bien técnicamente los empaques PF y PP producen resultados similares, la funda de PF es tres veces más cara que la de PP, por lo que, excepto para usos muy especiales, se recomienda el PP.

AGRADECIMIENTOS

A FUNDACYT, la Escuela Politécnica Nacional y Universidad Central por financiar este trabajo.

A Luis Hidalgo por participar y contribuir eficientemente en este proyecto.

Al Ing. Roberto Serrano L. de GreenLab por su valiosa colaboración.

BIBLIOGRAFÍA

- Alique R. 2000. Principios generales de la aplicación del frío a los alimentos. En: Lamúa M, Aplicación del frío a los alimentos. AMU Ediciones, Madrid.
- Artés F. 2000. Conservación de los productos vegetales en atmósfera modificada. En: Lamúa M, Aplicación del frío a los alimentos. AMU Ediciones, Madrid.
- Cantwell M. 2001. Características y condiciones recomendadas para el almacenamiento por tiempo largo de frutas y hortalizas frescas. Consultado el: 2006/08/01. De: http://postharvest.ucdavis.edu/Produce/Storage/span_h1.shtml.
- Flexo Fama. 2007. Especificaciones técnicas de la envoltura transparente Peakfresh. Consultado el: 2007/01/09. De: http://www.flexofama.com/3_Technical_Specifications.PDF.
- Hardenburg R, Watada, A, Wang, C. 1990. The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks. United States Department of Agriculture.
- Kader A, Brecht, P, Woodruff, R, Morris, L. 1973. Influence of carbon monoxide, carbon dioxide, and oxygen levels on Brown Stain, respiration rate, and visual quality of lettuce. Consultado el: 2006/09/06. De: <http://nccc.ucdavis.edu/files/datastore/234-434.pdf>.
- Wills R, McGlasson, B, Graham, D, Joyce, D. 1998. Introducción a la fisiología y manipulación poscosecha de frutas, hortalizas y plantas ornamentales. Segunda ed. Acribia-Zaragoza.

FORMULACIÓN DE UN ALIMENTO NUTRICIONALMENTE BALANCEADO EN BASE A ARROZ PRECOCIDO Y PROTEÍNA TEXTURIZADA DE SOYA

Acuña, Oswaldo y Ruiz, Christian

ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA

Campus Politécnico "José Rubén Orellana Ricaurte"

Teléfono: 02-2222-171; e-mail: agroindustria@epn.edu.ec, oswaldo@server.epn.edu.ec

QUITO - ECUADOR

Palabras claves: nutrición, arroz precocido; proteína texturizada de soya; balance aminoacídico

RESUMEN

En la formulación de la mezcla arroz precocido y proteína texturizada de soya, se evaluó la complementación aminoacídica entre estos dos componentes.

El arroz precocido se obtuvo mediante el proceso hidrotérmico de sancocado hasta alcanzar una textura *al dente* del grano, obtenido en tratamientos experimentales en los que se evaluó dos niveles de las variables tiempo de precocción (20 y 30 minutos) y relación peso de arroz – volumen de agua (P/V de 1:4 y 1:5), donde el menor tiempo de precocción y mayor relación P/V fueron las condiciones óptimas de proceso.

La proteína texturizada de soya fue elaborada a partir de harina semidesgrasada de soya obtenida por el proceso de extrusión – prensa expeler (Acuña y Ruiz 2003).

Se realizó una encuesta de aceptabilidad para tres formulaciones del producto Arroz precocido-Proteína texturizada cuyos porcentajes de mezcla fueron 80:20; 70:30 y 60:40.

La formulación 70:30 alcanzó el mayor grado de gusto (46,67%) y disposición a la compra (76,67%). Una porción del producto (100g) aporta con 368,34 Kcal equivalentes al 18,42% del requerimiento de una dieta de 2000 Kcal. Se determinó un score aminoacídico de 80% para la lisina, aminoácido limitante.

Los resultados de la evaluación reológica del arroz precocido y de la proteína texturizada de soya, demuestran una alta funcionalidad de los mismos, con un Índice de Absorción de Agua superior al 300%, equivalente a una capacidad de retención de agua igual al doble del peso del producto seco, aspecto que le concede al producto gran versatilidad en la preparación final.

INTRODUCCION

La desnutrición constituye un serio problema de salud pública en América Latina. Según la Organización Mundial de Salud (OMS), en esta coexisten la malnutrición y la obesidad, «patologías multifactoriales evitables», que afectan a niños y adultos.

La ingesta de alimentos constituidos sobre todo por carbohidratos, ha dado lugar a la desnutrición calórico-proteínica, que lleva consigo problemas como retardo del crecimiento, sobrepeso u obesidad que hoy en día se manifiesta ya a edades muy tempranas.

Debido a la gran importancia que han adquirido en la dieta humana, el arroz un cereal de alto consumo per capita a nivel mundial, y la soya, leguminosa rica en proteínas, han sido considerados para formular un alimento nutricionalmente balanceado, que puede constituir una alternativa para la ejecución de Programas de Asistencia Alimentaria.

Tecnologías de Proceso

Precocción.- Tratamiento hidrotérmico por el cual se modifican parcialmente las características físicas y químicas que impulsan la conversión de unas sustancias a otras,

tornando a los alimentos en productos más digestibles, reduciendo el tiempo de cocción final.

Extrusión – Texturizado.- Proceso que permite en transformar la estructura molecular del alimento proteico, dando lugar a productos con forma y textura muy diferentes a las del material original, de estructura fibrosa e insoluble en agua, debido al efecto de fuerzas de presión y cizalla, incremento gradual de la temperatura y presión, sin alterar significativamente la calidad nutricional del alimento, ya que la cantidad de energía suministrada es por corto tiempo (HTST).

Balance nutricional.- Una alternativa para proveer la cantidad de proteínas y energía necesarias para mantener una buena salud, logrando equilibrio entre lo requerido y lo aportado, es combinar en la dieta alimentos nutricionalmente complementarios.

La calidad nutricional de un alimento se determina a través de la Relación de Eficiencia Proteica (PER, por sus siglas en inglés), resultado de medir el aumento de peso por gramo de proteína ingerida en el organismo que lo consume, sin embargo, su utilización desestima la importancia de las proteínas vegetales, por ello, la FAO junto a la OMS, han adoptado el método conocido como PDCAAS (Protein Digestibility-Correct Amino Acid Score), el cual evalúa la calidad biológica de las proteínas comparando el contenido aminoacídico del alimento con el patrón de requerimientos de aminoácidos establecido por la FAO/OMS

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales.

Se empleó arroz pilado tipo flor para el proceso de precocción. La proteína texturizada de soya se elaboró a partir de harina semidesgrasada de soya obtenida por extrusión – prensa expeler.

Métodos.

Caracterización física: Se determinó el tipo de grano y grado de calidad del arroz, y la granulometría de la harina de soya.

Caracterización química proximal.- La caracterización de las materias primas fue realizada bajo los métodos AOAC.

Obtención de arroz precocido: El proceso comprendió:

Lavado.- Elimina las partículas del pilado adheridas al grano.

Precocción.- La Tabla 1 muestra los ensayos experimentales realizados para obtener el arroz precocido, donde:

TMN: Tiempo de precocción y relación peso:volumen, mínimos

TRM: Tiempo de precocción mínimo, relación peso:volumen máximo

TPM: Tiempo de precocción máximo, relación peso:volumen mínimo

TMX: Tiempo de precocción y relación peso:volumen, máximos

Condiciones fijas de operación

- Tipo de grano de arroz
- Humedad del grano (alcanzada en la acción de lavado)

- Temperatura de precocción: Agua a ebullición

Tabla 1.
Condiciones de operación en la obtención de arroz precocido

Ensayo Variable	TMN	TRM	TPM	TMX
Tiempo (min)	20	20	30	30
Relación (P:V)	1:4	1:5	1:4	1:5
Peso : Volumen				

El arroz lavado fue vertido en agua a ebullición según los tiempos indicados. Durante la precocción del grano se determinó la variación de la humedad en función del tiempo. El arroz precocido fue escurrido y sometido a un baño de agua fría para detener la cocción y eliminar los sólidos disueltos adheridos al grano.

Secado del grano de arroz precocido.-

Presecado.- Se colocó el arroz en una estufa por 15 minutos a una temperatura de 110° C y flujo de aire de 5m³/s. condiciones que evitan la formación de una capa impermeable y el pardeamiento de la superficie del grano, propiciando un secado uniforme.

Temperado.- Se retiró el arroz de la estufa, y por 10 minutos se lo mantuvo a temperatura ambiente, para detener el endurecimiento.

Secado final.- Se introdujo nuevamente el arroz a la estufa para su secado total. Con un flujo de aire de 5m³/s y temperatura de 65° C.

La funcionalidad del arroz precocido seco y de la proteína texturizada se evaluó mediante los índices de absorción de agua, sólidos solubles y poder de hinchamiento. Se realizó además una encuesta de aceptabilidad de los productos cocidos por 10 minutos en agua a una relación de 1:5.

Obtención de Proteína texturizada de soya: Se empleó un extrusor Brabender con relación 20 L/D. Las condiciones de operación fueron seleccionadas del trabajo realizado por Acuña y Ruiz (2003), y son las siguientes:

- Preacondicionamiento: 24 % de humedad con agua a pH = 7.0
- Perfil de temperatura : T₁ = 80° C; T₂ = 125 ° C; T₃ = 180° C
Donde: T₁ = zona de alimentación, T₂ = zona de amasado y T₃ = matriz de descarga
- Velocidad del tornillo del extrusor: 126 rpm
- Relación de compresión: 1:3
- Diámetro de la boquilla de salida: 3 mm
- Secado: 20 minutos con un flujo de aire de 5m³/s a 65° C

Los índices de absorción de agua, sólidos solubles y poder de hinchamiento se determinaron luego de cocer la proteína texturizada a las condiciones de cocción final del arroz precocido.

Formulación del producto nutricionalmente balanceado: Los niveles de la mezcla Arroz precocido-Proteína texturizada se definieron procurando la complementación aminoacídica y considerando que una ración del producto (100g) satisfaga el 20% del requerimiento calórico-proteico diario.

Mediante el cálculo del PDCAAS (Protein Digestibility – Correct Amino Acid Score) se obtuvo el valor corregido del cómputo químico de la formulación, que resulta de multiplicar el porcentaje de digestibilidad de la proteína del alimento (95.30%) por el cómputo químico de la lisina, 84%, obteniéndose el valor de 80%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la caracterización física del arroz son:

- *Tipo de grano:* Dado por las dimensiones del grano de arroz:

- Longitud (L): 7.08 +/- 0.23 mm
- Diámetro (D): 1.99 +/- 0.16 mm
- Relación L/D : 3.54

- *Grado de calidad:* Composición física de una muestra de arroz, detallada en la Tabla 2.

El arroz empleado es de primera calidad, por contener un 90 % de granos enteros y presencia mínima de granos manchados e impurezas.

Tabla 2.
Grado de calidad del arroz

Ítem	Composición (%) *
Granos enteros	89.95 ± 0.56
Granos partidos (1/2; 3/4)	6.22 ± 0.37
Granos partidos (1/4)	3.77 ± 0.43
Granos manchados e Impurezas	0.06 ± 0.03

* Promedio de tres determinaciones

Del análisis granulométrico de la harina de soya se tiene que un 60% de partículas presentan un diámetro inferior a 355 µm, lo que durante el proceso de texturizado en un extrusor de tornillo simple puede constituirse en una limitante, según Kearns, J. et al. (2002), quien establece que el 95% de partículas tengan un tamaño menor a 150µm, sin embargo, este sugiere el preacondicionamiento, cuando se procesen partículas de tamaño entre 180 a 150µm.

La caracterización química proximal de las materias primas es presentada en la Tabla 3.

Tabla 3.
Composición química proximal de las materias primas

Parámetro	Arroz pilado	Harina semidesgrasada de soya
Humedad (%)	12.00 ± 0.40	5.11 ± 0.3
Proteínas (%)	7.04 ± 0.05	45.63 ± 0.07
Grasa (%)	0.95 ± 0.25	9.58 ± 0.3
HCO Totales (%)	79.2	33.05
Fibra cruda (%)	0.54 ± 0.01	0.25 ± 0.01
Cenizas (%)	0.81 ± 0.10	6.26 ± 0.09

La harina de soya puede considerarse como proteica, al contener 45.63% de proteínas, contenido próximo al establecido por la Norma Codex para productos proteínicos de soya. El contenido de materia grasa, 9.58%, lo convierte en un alimento calórico.

Elaboración del Arroz precocido

El contenido de humedad en el grano seco crudo experimentó un incremento de 11.99% a 15.96% luego del lavado. El nivel de humedad del grano se incrementó en relación directa con el tiempo de precocción hasta el minuto veinte, a partir del cual la absorción de agua fue limitada, debido a que el gránulo de almidón presenta un límite máximo de hidratación.

El valor de los índices que califican la funcionalidad del grano precocido seco se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4.
Índices de Absorción de Agua, Sólidos Solubles y Poder de Hinchamiento del arroz precocido luego de la cocción final

Índice	Tratamiento experimental			
	TMN	TRM	TPM	TMX
IAA (%)	303.30	325.00	300.50	311.10
ISS (%)	0.54	0.52	0.21	0.47
PHI (%)	304.95	326.70	301.14	312.57

El arroz precocido alcanzó una textura "al dente", parámetro que revela que el tratamiento hidrotérmico no ha sido extremadamente fuerte, consecuencia de ello, un mínimo grado de dextrinización en el gránulo de almidón.

Luego del secado final, el nivel de humedad fue de 4.30%, contenido que hace de este un producto poco perecible.

El arroz precocido seco presentó una apariencia cristalina con una ligera apertura de sus puntas y fisuramiento del grano, aspecto favorable para la cocción final ya que facilita la rehidratación.

La capacidad de absorción y retención de agua son equivalentes al doble del peso del arroz precocido seco. En función de esto, el mejor tratamiento está dado por un tiempo de precocción de 20 minutos, y relación P/V de 1:5.

La eficiencia del proceso de precocción se determinó por el tiempo de cocción final (TC), para lo cual se realizó una encuesta de aceptabilidad, donde se evaluó el atributo GUSTO. En esta, el 32,5 % de los encuestados definió al arroz obtenido con 20 minutos de precocción y relación P/V de 1:5 con la mayor aceptabilidad. El 60% de las respuestas "Me gusta mucho" correspondieron al arroz del mencionado tratamiento.

La aceptabilidad del arroz de los tratamientos con la menor relación peso:volumen, fue baja y la evaluación de la textura reveló una cocción insuficiente del grano. El arroz obtenido con la relación P/V de 1:5 presentó una textura suave (suelto y palatable), indicativo de un adecuado grado de cocción.

Elaboración de la Proteína texturizada de soya

Las condiciones de operación seleccionadas del trabajo realizado por Acuña y Ruiz (2003) permitieron obtener una proteína texturizada de espesor y tamaño uniforme, 2 a 5 mm y 1 a 1.5 cm, respectivamente, de coloración marrón oscuro.

La caída de presión y gradiente de temperatura que experimenta la proteína texturizada al salir del extrusor, provoca su expansión exotérmica y reducción del contenido de humedad.

El grado de humidificación de la harina y el perfil de temperatura del proceso dan certeza de la inactivación de factores antinutricionales como la ureasa y el inhibidor de tripsina, según los criterios de Ledward D. et al (2002).

La extrusión fue realizada con una fracción de la grasa natural de la soya, con el propósito de conservar los ácidos linoleico y linolénico, esenciales para el crecimiento y desarrollo humano.

Al secar la proteína texturizada se redujo la humedad de 14 a 4.25%. Luego de cocer la proteína texturizada a las condiciones de cocción final del arroz se obtuvo un producto apto para el consumo

Formulación del producto nutricionalmente balanceado

La caracterización química proximal del arroz precocido y de la proteína texturizada de soya es presentada en la Tabla 5.

Tabla 5. Composición química proximal

Ítem	Arroz precocido	Proteína texturizada
Humedad	4.30 ± 0.3	4.25 ± 0.26
Cenizas	0.97 ± 0.1	6.41 ± 0.1
Grasa	1.49 ± 0.3	9.20 ± 0.2
Proteínas	7.64 ± 0.04	48.00 ± 0.05
Carbohidratos totales	85.60	32.18
Fibra cruda	0.63 ± 0.02	0.30 ± 0.01

Cómputo Químico.- Se determinó la suplementación aminoacídica mediante el cálculo del cómputo químico del producto formulado, cuyos resultados se muestran en la Tabla 6.

Respecto a la lisina, el grado de suplementación aminoacídica, adquiere un mayor valor cuando se incrementa el contenido de la proteína texturizada en la formulación.

Los productos obtenidos de las tres formulaciones (80/20; 70/30 y 60/40) fueron sometidos a cocimiento por 10 minutos en un volumen de agua equivalente a cuatro veces el peso del producto.

Tabla 6. Cómputo Químico para el grupo de aminoácidos esenciales de la mezcla Arroz Precocido (AP) – Proteína Texturizada (PTS)

Aminoácido (%)	Formulación AP-PTS		
	80/20	70/30	60/40
Cistina + Metionina	149,0	143,6	138,1
Fenilalanina + Tirosina	161,4	158,8	156,1
Histidina	132,6	133,2	133,7
Isoleucina	162,1	164,6	167,1
Leucina	125,5	124,6	123,6
Lisina	79,0	84,0	89,0
Treonina	119,4	120,3	121,2
Triptofano	112,7	114,6	116,4
Valina	177,1	174,3	171,4

Los productos cocidos fueron sometidos a una encuesta de aceptabilidad, en la que la formulación 70/30 tuvo la mayor preferencia, 43% y disposición a adquirirlo, considerando que fue consumido en forma de alimento sólido, tipo arroz seco. En función de estos resultados se presenta la información nutricional en la Tabla 7.

Tabla 7. Información nutricional del producto nutricionalmente balanceado con formulación 70:30

Arroz precocido – Proteína texturizada de soya		
Tamaño por porción: 100 g		
	Cantidad por porción	% Valor Diario*
Energía	387.73 Kcal	19.39
Energía por grasa	33.57 Kcal	
Proteína	19.36 g	38.73
Carbohidratos totales	69.18 g	23.06
Grasa total	3.73 g	4.80
Fibra	0.54 g	6.71

* Información de valor diario basada en una dieta de 2000 Kcal

CONCLUSIONES

Al aportar el arroz con los aminoácidos azufrados, y la soya con la lisina, estos alimentos ratifican su complementariedad nutricional, permitiendo alcanzar un score aminoacídico de 80% para la lisina.

La formulación 70/30 arroz precocido-proteína texturizada de soya, obtenido en un tiempo de precocción de 20 minutos y relación P/V de 1:5, satisface en un 19,39% los requerimientos de energía, en 23,06% los de carbohidratos y en más del 30% las necesidades de ingesta diaria de proteína, de los requerimientos de una dieta de 2000 Kcal. La excelente calidad proteica y alta digestibilidad del producto, lo convierte en un alimento apto para el consumo desde infantes hasta adultos mayores.

BIBLIOGRAFÍA

- Acuña, Oswaldo.; Ruiz, Christian. 2007; "Proteína Texturizada de Soya a partir de harina semidesgrasada de soya" Proyecto Promsa-EPN. Quito-Ecuador
- Chauvin H., José: 1981; Elaboración de un Suplemento Alimenticio a Base de Arroz y Soya; Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá (INCAP)
- Harper, Judson. 1981; "Experiencias con extrusión de soya" en <http://www.aces.uiuc.edu/asamex/extrusion5.html>
- Ledward, D.A.; Rasul, S.; Mitchell, J.R.; "Chemical changes during protein extrusion"; pgs 1276-1281.
- Tapia, Mario et al. 1995; "Cultivos Andinos: Valor nutritivo y patrones de consumo"; FAO-OMS

**“MILK-DRINK” DE SORO DE QUEIJO MANTEIGA E SUCO DE ACEROLA
(*Malpighia emarginata* DC)**

Cruz, A.G.da¹, Sant’Ana, A. S.², Macchione, M.M.¹, Teixeira, A.M.¹ & Schmidt, F.L.¹

¹Unicamp, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de Tecnologia de Alimentos.

²Unicamp, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de Ciência de Alimentos.

¹Rua Monteiro Lobato, s/n. Cidade Universitária Zeferino Vaz.

CEP: 13083-862 - Campinas, SP - Brasil - Caixa-Postal: 139.

Telefone: (55 19) 35214017- Fax: (55 19) 37893617

e-mail: schmidt@fea.unicamp.br

Keywords: bebida de soro, suco de acerola, processamento.

RESUMO

Três formulações da bebida foram desenvolvidas: B₁ (50% soro de queijo manteiga - SQM - 50% v/v suco de acerola -SA), B₂ (70% SQM- 30% v/v SA) e B₃ (30% SQM- 70% v/v SA) e submetidas à caracterização. Teores menores de proteínas e carboidratos foram relacionados à menor quantidade de soro na formulação (p<0,05). Todas as bebidas apresentaram valor energético inferior aos declarados em bebidas lácteas disponíveis para comercialização no mercado brasileiro. As bebidas B₁ e B₂ foram consideradas como produtos alimentícios fontes de vitamina C. B₃ apresentou variação significativa em todos os atributos sensoriais avaliados (p<0,05), embora os resultados sejam semelhantes aos obtidos por B₁, o que sugere um potencial de comercialização para essas formulações.

INTRODUÇÃO

Bebidas a base de soro de queijo constituem a forma racional e palatável de retorno desse composto a alimentação humana. A produção de uma bebida com soro de queijo e suco de acerola apresenta um grande potencial de comercialização já que pode agregar os benefícios proporcionados pelo soro de queijo e suco de acerola, como a ingestão de aminoácidos essenciais e aumento do teor de vitamina C, resultando em um produto com elevado valor nutricional e diferenciado com a possibilidade de geração de renda adicional aos laticínios da região. O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma bebida contendo soro de queijo manteiga (SQM) e suco de acerola (AS) e submetê-la a caracterização físico-química e sensorial

MATERIAL E MÉTODOS

As bebidas formuladas continham em sua formulação polpa de acerola integral congelada, *Malpighia emarginata* DC (Maise[®], Fortaleza, Brasil), soro de queijo manteiga, pectina (CpKeleo Genu[®] YM115-H) e açúcar (Guarani[®], São Paulo, Brasil). A partir do soro de queijo manteiga e polpa de acerola, três formulações em duplicata da bebida de soro de leite-suco de acerola foram desenvolvidas: B₁ (50% de soro e 50% de suco de acerola), B₂ (70% de soro e 30% de suco de acerola) e B₃ (30% de soro e 70% de suco de acerola). O soro obtido a partir da coagulação ácida do leite foi pasteurizado à 72°C / 15 segundos e a polpa de acerola descongelada foi diluída com água potável na proporção 1:3, conforme indicado pelo fabricante. A pectina (0,5 p/v%) e o açúcar (12,0 p/v%) foram dissolvidos e hidratados em uma porção de 2000 ml do soro de queijo manteiga previamente aquecido à 50°C. Posteriormente, adicionou-se o restante do soro de queijo manteiga e da polpa de acerola, seguindo-se a homogeneização em mixer doméstico por 5 minutos (Wallita[®], 1350 r.p.m.). Posteriormente, a bebida passou por uma peneira plástica (Bovitec[®]), envasada em garrafas de vidro de 250 mL, previamente esterilizadas com água fervente por 15 minutos e submetida a pasteurização por 85°C / 10 minutos. As garrafas foram então resfriadas até 25°C e estocadas à 5°C. Todo o experimento foi repetido duas vezes, sendo que em cada vez foram produzidos 5 litros de cada bebida.

As bebidas foram submetidas a análises de composição centesimal (extrato seco, proteína, carboidrato, lipídios e cinzas) e de natureza físico-química (pH, acidez titulável,

sedimentação de partículas, vitamina C e viscosidade) e instrumental (atividade de água e cor) e análise sensorial (teste de consumidor com 103 provedores voluntários, utilizando-se escala hedônica estruturada mista de 9 pontos, onde o valor 1 correspondia a “desgostei extremamente” e o valor 9 a “gostei extremamente”, sendo as amostras apresentadas de forma balanceada e monódica). As análises físico-químicas e instrumentais foram realizadas em triplicata sendo cada processamento repetido duas vezes. Elas foram realizadas segundo metodologia padronizadas reconhecidas (Instituto Adolfo Lutz, 2006; Meigard et al, 1999).

Os resultados das análises físico-químicas e análise sensorial das bebidas foram submetidos a Análise de Variância (ANOVA) com posterior adoção do Teste de Tukey utilizando o programa SAS System versão 6 (SAS Institute, 1996). Probabilidades p<0,05 foram consideradas significativas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 1. Composição Centesimal das Bebidas

Componentes	B ₁	B ₂	B ₃
Extrato seco total	85,0 ^a	85,0 ^a	86,2 ^b
Lipídios	0,12 ^a	0,14 ^a	0,13 ^a
Proteínas	0,45 ^a	0,52 ^a	0,34 ^b
Carboidratos	14,3 ^a	14,2 ^a	13,3 ^b
Cinzas	0,07 ^a	0,08 ^a	0,08 ^a
Valor Energético (Kcal / 100g)	60,3 ^a	60,4 ^a	55,7 ^b

*Análises Realizadas em triplicata, valores médios de dois processamentos. Letras diferentes na mesma linha denotam significância estatística (p<0,05). B₁=50%Soro-50%acerola, B₂=70% soro-30% acerola, B₃=30% soro-70% acerola)

A tabela 1 mostra a composição centesimal das bebidas. Extrato seco total, cinzas gorduras e proteínas não apresentaram variação significativa entre as diferentes formulações (p>0,05). A bebida B₃ (30% soro-70% acerola) apresentou um teor menor de proteínas, carboidratos e valor calórico em relação às outras formulações, o que pode estar relacionado a menor quantidade de soro (p<0,05), já que este componente possui em sua composição lactose e proteínas que influenciam no computo geral desses nutrientes no alimento processado e consequentemente no valor energético. Entretanto, todas as bebidas apresentaram valor energético inferiores aos declarados em bebidas lácteas disponíveis para comercialização no mercado brasileiro, ressaltando que essas bebidas contêm leite na sua formulação.

A Tabela 2 mostra os resultados das análises físico-químicas realizadas nas bebidas. A bebida B₃ (30% soro-70% acerola) apresentou uma maior quantidade de vitamina C e sedimentação (p<0,05) e viscosidade (p<0,05) – 1,10 mg, 15,9 e 26,5 cp, respectivamente, em relação às duas outras formulações (p<0,05). Maiores valores de sólidos solúveis e acidez – 13,7 °Brix e 0,44 % ácido cítrico, respectivamente, foram observados para a bebida B₂, que continha iguais porcentagens de soro de queijo e acerola (p<0,05). O pH da

bebida B₁ - 4,23 - apresentou-se superior aos valores registrados pelas outras formulações (p<0,05). Não foram observadas variações significativas para atividade de água e ratio para nenhuma das bebidas (p<0,05). As bebidas B₁ e B₂ são consideradas como produtos alimentícios fontes de vitamina C, já que de acordo com a legislação brasileira, a ingestão diária recomendada de vitamina C para adultos é 60 mg (Brasil, 1998). Assim, a ingestão regular desse produto pode ser considerada um aporte nutricional para os consumidores.

A inclusão de suco de acerola na formulação não influenciou os valores de atividade de água, enquanto que o teor de sólidos solúveis foi alterado embora de forma significativa (p<0,05), principalmente pela inclusão de menor conteúdo de suco de acerola na formulação. Os valores de acidez e pH também apresentaram variação significativa entre as formulações, sendo que B₃ apresentou o menor valor, o que pode estar relacionado a um sinergismo entre o suco de acerola - naturalmente ácido - e o soro de queijo, obtido por coagulação ácida. Valores maiores de sedimentação e viscosidade foram registrados igualmente para B₃ (p<0,05), estando relacionado às interações entre os carboidratos presentes na acerola e as proteínas do soro.

Tabela 2. Análises Físico-Químicas das Bebidas.

Componentes	B ₁	B ₂	B ₃
Vitamina C (mg)	75 ^a	52 ^b	110 ^c
Atividade água	0,96 ^a	0,97 ^a	0,97 ^a
Sólidos Solúveis(°B)	14,3 ^{ab}	15,4 ^a	13,7 ^b
Acidez(%ac. Láctico)	0,40 ^a	0,44 ^b	0,36 ^c
Ratio	2,83 ^a	2,86 ^a	2,64 ^b
pH	4,23 ^a	4,08 ^b	4,13 ^c
Viscosidade (cp)	23,8 ^a	16,4 ^a	26,5 ^a
Sedimentação	12,6 ^a	10,7 ^b	15,9 ^c

*Análises Realizadas em triplicata, valores médios de dois processamentos. Letras diferentes na mesma linha denotam significância estatística (p<0,05). B₁=50%Soro-50%acerola, B₂=70% soro-30% acerola, B₃=30% soro-70% acerola)

A tabela 3 mostra os valores registrados para cor nas bebidas. A inclusão de maior quantidade de suco de acerola proporcionou um aumento nos valores de L, a e b (p<0,05). Isso pode estar relacionado à maior quantidade de carotenóides advindos da fruta, que são pigmentos responsáveis pela cor e que influenciaram nesse atributo no produto final.

As bebidas B₁, B₂ e B₃ foram avaliadas sensorialmente por 103 provadores não treinados, sendo 40% do sexo masculino e 60% do sexo feminino, dentro de uma faixa etária entre 15 e 50 anos. A tabela 4 mostra o resultado da análise sensorial das bebidas. Observou-se variação significativa em todos os atributos sensoriais avaliados (p<0,05) para B₃ (30% soro-70% acerola) sugerindo melhor performance dessa formulação em relação a B₁ (50% soro-50% acerola) e B₂ (70% soro-30% acerola), respectivamente, tendo com isso melhor aparência, aroma, sabor e viscosidade. A presença de uma maior quantidade de suco de acerola nessa formulação, que resultou em uma bebida com uma coloração vermelha mais intensa, pode ter contribuído para tal resultado, na medida em que incorporou parâmetros intrínsecos da fruta no produto final, como o aroma e o sabor típico da fruta.

Tabela 3. Análises de Cor nas Bebidas

Cor	B ₁	B ₂	B ₃
L	30,7 ^{ab}	29,7 ^b	32,2 ^a
a	3,9 ^a	2,2 ^b	5,7 ^c
b	6,9 ^a	5,2 ^b	8,3 ^c

*Análises Realizadas em triplicata, valores médios de dois processamentos. Letras diferentes na mesma linha denotam significância estatística (p<0,05). B₁=50%Soro-50%acerola, B₂=70% soro-30% acerola, B₃=30% soro-70% acerola)

Tabela 4- Aceitação sensorial das bebidas de soro de queijo manteiga e suco de acerola*

BB	Aparência	Aroma	Sabor	Consistência
B ₁	6,70 ^{ac}	6,07 ^a	6,07 ^a	6,57 ^{ac}
B ₂	5,33 ^b	5,44 ^b	4,78 ^b	5,80 ^b
B ₃	6,91 ^c	6,75 ^c	6,76 ^c	6,66 ^c

*Análises Realizadas em triplicata, valores médios de dois processamentos. Letras diferentes na mesma linha denotam significância estatística (p<0,05). B₁=50%Soro-50%acerola, B₂=70% soro-30% acerola, B₃=30% soro-70% acerola)

Entretanto, é importante ressaltar que, apesar variação significativa da referida bebida, as notas desta e de B₃ estão na mesma faixa na escala hedônica, a saber: aparência (6,70-6,91), aroma (6,07-6,75), sabor (6,07-6,76) e viscosidade (6,57-6,66), entre as opções "gostei ligeiramente" e "gostei moderadamente" para ambas as formulações.

CONCLUSÃO

Os resultados desse estudo permitem concluir que é possível produzir-se uma bebida de soro de queijo manteiga com suco de acerola, com boa performance sensorial, sendo fonte de vitamina C e com baixo valor calórico. Embora os resultados sugiram que o mix 30% soro-70% suco de acerola (v/v) é a melhor combinação a ser utilizada, a formulação com 50% soro-50% suco de acerola (v/v) também apresentou potencial de comercialização na avaliação dos atributos sensoriais. Estudos adicionais tornam-se necessários para verificação do comportamento dessas formulações durante o período de estabilidade, frente à possíveis contaminantes do produto como *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella sp.*, bem como a utilização de outras combinações e outros estabilizantes para a otimização do processamento.

REFERENCIAS

Instituto Aldolfo Lutz. (2006). Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físico para análise de alimentos, 2ª edição, volume 1. São Paulo, SP: Editora do IAL.
 Meigard, M., Civille, G.V., Carr, T.B. 1999. Sensory Evaluation Techniques: Third Edition. 291 pp. Flórida, USA: CRC Press.
 Statistical Analysis System for Windows. SAS User's Guide: Statistics. 1996

UTILIZACIÓN DE MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPME) EN LA CARACTERIZACIÓN AROMÁTICA DE PRODUCTOS CÁRNICOS PROCESADOS

María Pía Gianelli ¹, Lorena Briones-Uribe ¹, Julio Junod ¹, Miguel Friz ².

¹ Departamento de Ingeniería de Alimentos. Facultad de Ciencias de la Salud y los Alimentos

² Departamento de Ciencias de la Educación. Facultad de Educación y Humanidades

Universidad del Bío-Bío

Avenida Andrés Bello s/n, Casilla 447. Chillan-Chile

Palabras clave: proceso térmico en carnes, aroma, compuestos volátiles, SPME-CG

RESUMEN

Para la industria cárnica, el aroma es uno de los atributos más valorados. Las carnes crudas poseen poco o nada de aroma, sin embargo, durante el proceso de cocción una serie de reacciones químicas dan lugar a varios compuestos volátiles que contribuyen al aroma. Además, la elevada producción de carnes y productos cárnicos de exportación en Chile, surge la necesidad de encontrar herramientas analíticas eficientes para la caracterización del aroma en estos productos. En este sentido, la Microextracción en Fase Sólida (SPME), ha demostrado ser una herramienta útil para la determinación de compuestos volátiles.

La presente contribución analizó la generación de compuestos volátiles en carnes asadas, mediante SPME acoplado a cromatografía de gases con detector selectivo de masa (CG-MS), se utilizan muestras especies avícolas: pollo y pavo.

Se identificaron 17 compuestos volátiles extraídos desde el espacio de cabeza, pertenecientes a las familias químicas de las cetonas, aldehídos, alcoholes, hidrocarburos y ácidos carboxílicos.

Los resultados obtenidos indican que el procesado térmico generó diversos compuestos volátiles, los cuales se producen principalmente a través de oxidación lipídica. De estos compuestos identificados, los que presentan mayor área de respuesta en ambas especies estudiadas corresponden a los alcoholes, sin embargo, éstos no son importantes contribuyentes al aroma en carnes. Otros compuestos relevantes identificados, son los aldehídos y cetonas, los cuales contribuyen significativamente al aroma en carnes como resultado de un bajo umbral de percepción.

INTRODUCCIÓN

Las carnes y productos cárnicos constituyen uno de los sectores industriales de mayor importancia en las sociedades desarrolladas, no sólo por su especial crecimiento y grado de tecnificación, sino por los índices económicos que genera y su

repercusión en la economía doméstica. Se puede definir el término "calidad de la carne" de un modo general, como la totalidad de las cualidades positivas que constituyen el valor sensorial, tecnológico, higiénico y nutritivo de la carne, dentro de las cuales una de la más valorada es el aroma. Shahidi et al. (1986) señala que el aroma está constituido por centenares de compuestos volátiles y semivolátiles pertenecientes a distintas familias químicas, con características oloríficas diferentes y que se encuentran en muy variable concentración. Las sustancias precursoras del aroma pueden originarse a través de múltiples reacciones. El procesado térmico no sólo afecta las características organolépticas sino que puede afectar además a la composición lipídica de la carne. Se debe tener en consideración que al someter a tratamiento térmico la carne se generan pérdidas de agua, concentrándose así todos los constituyentes de ésta (Cortinas, 2004). Además el calor aplicado a las carnes durante el procesado térmico, modifica en cierta medida la oxidación de los componentes lipídicos, debido a la liberación de hierro desde los componentes hémicos, la destrucción de la integridad celular, la ruptura de hidroperóxidos preexistentes y la inactivación de enzimas antioxidantes, lo que conduce a la aceleración de la oxidación

(Cortinas, 2004). La generación de aromas en carnes procesadas térmicamente, se debe principalmente a las siguientes reacciones: Reacciones de Maillard, degradación de Strecker, oxidación lipídica, degradación de aminoácidos y péptidos, degradación de tiamina y degradación de azúcares (Mottram, 1998; Gianelli et al., 2002a). Los principales grupos de compuestos volátiles identificados en la matriz cárnica son: aldehídos, cetonas, ésteres, ácidos carboxílicos, hidrocarburos, furanos, alcoholes, lactonas, piridinas, pirazinas, compuestos nitrogenados, y compuestos azufrados (Shahidi et al., 1986). Badui (2006), señala que los lípidos que forman parte del tejido adiposo, así como la grasa intramuscular y los fosfolípidos tienen un papel primordial en la generación del aroma cárnico, ha reportado que la fracción lipídica provee volátiles, los cuales son característicos de cada especie animal, mientras que el tejido magro provee aquellos compuestos responsables del aroma a carne, los cuales son comunes en todas las especies animales (Elmore et al., 1999). El análisis del aroma requiere del aislamiento de los compuestos volátiles desde la matriz de la muestra y su concentración simultánea. Esto debe llevarse a cabo sin modificar la composición química de los agentes responsables del aroma. El principio en el que se basa la técnica de SPME generalmente es la partición de los analitos entre la matriz de la muestra y el recubrimiento de fibra. Así, el transporte de los analitos desde la matriz de la muestra hasta la fibra comienza cuando la fibra entra en contacto con la muestra y la extracción se considera completa cuando la concentración de analito ha alcanzado el equilibrio de distribución entre la muestra y la fibra. En el proceso de SPME se pueden diferenciar principalmente dos etapas. Una primera etapa de extracción en la que la fibra recubierta del sorbente se pone en contacto con la muestra durante un tiempo y temperatura determinadas, de manera que se produce una migración de los analitos desde la solución a la fibra hasta que se alcanza la situación de equilibrio. Después de esta primera etapa, se realiza la desorción de los analitos retenidos por la fibra. El proceso de SPME se puede ver afectado por una serie de variables experimentales que pueden ser modificadas para incrementar la eficacia del proceso de extracción. Entre estas variables se encuentran los tipos de fibras, temperatura, tiempo de extracción, volumen de muestra, presencia de sal, pH de la muestra, entre otros (Zhang et al., 1994).

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Se utilizaron muestras de carne magra de pollo y pavo, obtenidas desde tiendas locales, usando en ambos casos cortes magros.

Métodos

Preparación de la muestra

La muestra (50 g aproximadamente) se somete a un tratamiento térmico en un grill hasta alcanzar 80°C en el centro geométrico de la muestra por un período de 15 min. Posteriormente se introduce en un vial de 10 ml, 3g de muestra asada, cortada en pequeños cubos de 2 mm aprox., y se cierra el vial con tapa plástica de rosca con septos de PTFE sílica. La muestra se mantiene en el vial a 30°C en un calefactor de bloques durante 2 horas para equilibrar el espacio de cabeza con los compuestos volátiles. Transcurridas las 2 horas de equilibrio, la fibra de

SPME (CAR/PDMS 85 μm) se expone al espacio de cabeza del vial durante 30 minutos, manteniéndolo a una temperatura de 30°C. La desorción se realiza manualmente manteniendo la fibra en el puerto de inyección durante 5 minutos a 220°C con la válvula de purga abierta (modo splitless).

Los compuestos son separados en una columna capilar DB-624 de longitud de 60 metros, 0.25 mm de diámetro interno y 1.4 μm de película el gas de arrastre utilizado es helio con una velocidad lineal de 28.3 cm s^{-1} . Se calcula el contenido de cada compuesto volátil a partir del área y se expresa en unidades de área. Los compuestos son identificados mediante librería NCH 107 y NCH 21. Los resultados se expresan como la media \pm desviación estándar del área de las tres réplicas analizadas.

RESULTADOS Y DISCUSION

La fracción volátil responsable del aroma característico de ambas especies de carnes estudiadas en este trabajo, están constituidos por compuestos pertenecientes a la familia de las cetonas, aldehídos, alcoholes, hidrocarburos acíclicos alifáticos y ácidos carboxílicos, con un total de 17 compuestos extraídos desde el espacio de cabeza con la fibra CAR/PDMS de 85 μm . En la tabla 1 se presentan los resultados en detalle de cada compuesto volátil identificado en carnes de pollo y pavo, en la cual se presenta el índice de Kovats (KI), tiempo de retención, el área promedio y el porcentaje de área obtenido para cada compuesto volátil. Además, en la figura 1, es posible observar los cromatogramas obtenidos por CG-MS desde las muestras de carnes de pollo y pavo asadas. Los compuestos más relevantes en términos de porcentaje de área para las 2 especies animales estudiadas, corresponden a los alcoholes, sin embargo estos no contribuyen significativamente al aroma en carnes. La concentración total de alcoholes expresada en porcentaje de área correspondió a 35.9 y 31.4% para pollo y pavo respectivamente, los cuales derivan principalmente de la descomposición oxidativa de lípidos. El umbral de percepción de los alcoholes es más elevado que el de los otros compuestos carbonilos (aldehídos) y, por lo tanto, su influencia en el aroma es menor (Drumm y Spanier, 1991). De los alcoholes extraídos destaca el etanol, en ambas muestras, con un área total de 26.1 y 28.9% para pollo y pavo respectivamente. Shahidi et al. (1986) ha reportado la presencia de etanol en carnes, sin embargo, en las publicaciones realizadas por Wattasinghe et al. (2000) no se ha identificado la presencia de este alcohol. Este fenómeno puede ser atribuido a la afinidad existente entre la fibra CAR/PDMS y los compuestos de bajo peso molecular tal como el etanol, puesto que los trabajos de Wattasinghe et al. (2000) fueron desarrollados con la fibra Carbowax de elevada polaridad. Además, según los resultados obtenidos por Elmore et al. (2000) y Gianelli et al. (2002a), indican que la fibra CAR/PDMS es la más efectiva en la extracción de compuestos volátiles de bajo peso molecular. Todas las cetonas identificadas en pollo fueron también detectadas en pavo. La contribución de cetonas al contenido total de volátiles en pollo y pavo asados fue 21.9 y 4.3% respectivamente. En pollo, la 2-Propanona fue la cetona que presentó la mayor área de respuesta, sin embargo, en las muestras de pavo, la 2-Butanona-3-hidroxi es la cetona con mayor área de respuesta. Las cetonas pueden derivar desde la oxidación de ácidos grasos. El área total de respuesta para los aldehídos identificados en pollo fue 16.7%, los cuales también fueron identificados en pavo, presentando un área de respuesta de 20.6%. El hexanal fue el aldehído que presentó la mayor abundancia tanto para pollo como también para pavo, siendo levemente mayor el área de respuesta para pollo (14.2%) en comparación con el pavo (13.7%). Pentanal, heptanal y octanal presentaron valores similares en ambas muestras.

Tabla 1: Compuestos volátiles extraídos en carnes asadas

Nº ^a Compuesto	POLLO				PAVO	
	KI ^b	RT ^c	Area ^d	% Area ^e	Area ^d	% Area ^e
1 Etanol	510	7,97	54694005	26,04	1,43E+08	28,9
2 2-Propanona	538	9,26	24102482	11,68	13312319	1,55
3 2,3-Butanodiona	640	13,8	794482	0,35	3261995	0,38
4 2-Butanona	646	14,1	23322243	8,07	12189255	0,75
5 Acido Acético	695	17,6	1238325	12,29	46869144	5,47
6 Pentanal	747	18,2	1733153	1,08	26869316	6,11
7 2-Butanona-3-Hidroxi	791	20,2	4113454	1,82	13597632	1,59
8 1-Pentanol	831	21,5	5541982	5,85	9793293	1,14
9 Hexanal	857	22,3	32157211	14,22	50854756	13,7
10 2,3-Butanodiol	887	23,1	977230	2,36	2878854	1,03
11 Heptanal	968	25,3	1005703	0,44	3045290	0,36
12 Etanol-2-Butoxi	979	25,9	910761	0,40	1108764	0,13
13 *BHC	987	26,1	1113504	0,49	2111218	0,25
14 *BHC	1026	27,1	793596	0,35	649278	0,08
15 Octanal	1055	27,8	2132023	0,93	3696308	0,43
16 Undecano	1101	28,9	1036788	0,79	2835355	0,54
17 Hexanol	1110	29,1	2794411	1,24	2066959	0,24

^a Número de compuesto correspondiente a la Figura 1

^b Índice de Kovats

^c Tiempo de retención (min)

^d Resultados expresados como la media del área de la corriente total de iones (TIC) de tres réplicas

^e Porcentaje del área de TIC

* Hidrocarburo ramificado

Los aldehídos son derivados principalmente de la oxidación de ácidos grasos insaturados y desde las reacciones de Maillard (Estévez et al., 2003). El pollo asado presenta mayor porcentaje de área de respuesta tanto para los aldehídos como también para las cetonas. Este fenómeno se atribuiría principalmente al mayor contenido que presenta el pollo en ácidos grasos insaturados, los cuales desarrollan una mayor susceptibilidad a la oxidación lipídica. El undecano es el único hidrocarburo identificado tanto en las muestras de pollo como también en las de pavo. Así como las cetonas y los aldehídos, los hidrocarburos también son formados durante la oxidación de ácidos grasos. Si bien es cierto, la contribución al aroma de carnes de los hidrocarburos no se considera importante, pero ha sido reportada la presencia de éstos en carnes y productos cárnicos (Shahidi et al., 1986; Estévez et al., 2003).

CONCLUSIONES

El tratamiento térmico aplicado a carnes genera compuestos volátiles. El análisis cualitativo indica que los compuestos volátiles presentes en carnes tras el proceso térmico son los pertenecientes a la familia química de los alcoholes, sin embargo, éstos no son importantes contribuyentes al aroma de éstas. Los compuestos volátiles presente en carnes sometidas a cocción que más contribuyen al aroma de éstas son los aldehídos y las cetonas. Las cetonas provienen principalmente de la oxidación lipídica, mientras que los aldehídos son productos tanto de oxidación lipídica como también de reacciones de Maillard. La susceptibilidad a la oxidación lipídica de las carnes aumenta proporcionalmente a su contenido en ácidos grasos poliinsaturados, y se torna más evidente después del procesado térmico. Es así como mientras más contenido en lípidos posea la carne, más volátiles serán generados.

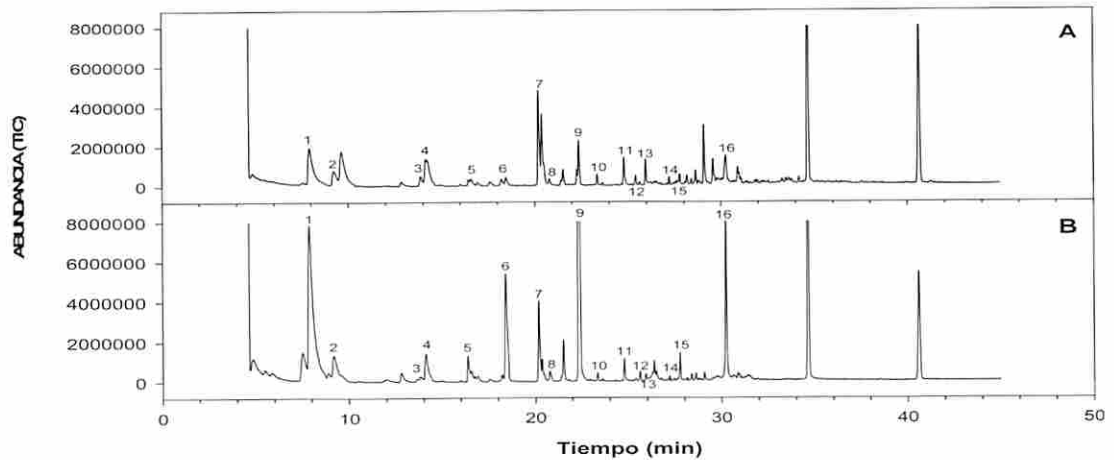


Figura 1: Cromatograma obtenido por CG-MS: (A), carne de pollo asada; (B), carne de pavo asada

BIBLIOGRAFÍA

- Badui, S. 2006. "Química de los Alimentos" Cta. Edición. Editorial Acribia S.A. México. pp: 480-498.
- Cortinas, L. 2004. "Niveles de ácidos grasos poliinsaturados y α -tocoferol en el pienso de broilers: Equilibrio entre composición lipídica y actividad oxidativa de la carne"
- Tesis de doctorado. Universidad Autónoma de Barcelona. España.
- Drumm, T.D., Spanier, A.M. (1991). "Changes in the content of lipid autoxidation and sulphur-containing compounds in cooked beef storage" *Journal Agriculture Food Chemistry* 39: 336-343.
- Elmore, J. S., Mottran, D. S., Enser, M., Wood, J. D. 1999. Effect of polyunsaturated fatty acid composition of beef muscle on profile of aroma volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 1619 – 1625.
- Elmore, J.S., Mottram, D.S., Hierro, E. (2000). "Two fibre solid phase microextraction combined with gas chromatography – mass spectrometry for the analysis of volatile aroma compounds in cooked pork" *Journal Chromatography* 905: 233-240.
- Estévez, M., Morcuende, D., Ventanas, S., Cava, R. 2003. Analysis of Volatiles in meta from Iberian Pigs and Lean Pigs after Refrigeration and Cooking by Using SPME-GC-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 3429-3435.
- Gianelli, M.P., Flores, M., Toldra, F. (2002a). "Optimisation of solid phase microextraction (SPME) for the analysis of volatile compounds in dry-cured ham" *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82: 1703-1709.
- Gianelli, M.P., Flores, M., Toldra, F. 2002b. "Importance of Meat Proteins on Flavour Release en Research Advances in the Quality of Meat and Meat Products" (Toldra F., Ed). Research Signpost, Trivandrum, India, pp 79-94.
- Mottran, D.S. 1998. Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chemistry*, 62: 415-424
- Shahidi, F., Rubin, L.J., D'suozza, L.A. 1986. "Meat flavor volatiles: a review of the composition techniques of analysis, and sensory evaluation" CRC. Critical Reviews. *Food Science Nutrition*, 24: 141-243.
- Wettasinghe, M., Vasanthan, T., Temelli, F., Swallow, K. (2000). "Volatile flavour composition of cooked by-product blends of chicken, beef and pork: a quantitative GC-MS investigation" *Food Research International* pp. 149-158.
- Zhang, Z., Yang, M., Pawliszyn, J. 1994. "Solid-Phase Microextraction" *Analytical Chemistry*, 66: 844-853.

Agradecimientos: Proyecto N°053821 3/R. Dirección de Investigación. Universidad del Bio-Bío.

EXTRACCIÓN DE GELATINA A PARTIR DE PIEL DE SALMÓN ATLÁNTICO (*Salmo Salar*)

Ronceros, Betty; Javier Leiva y Horstmeier, Jessica
UNIVERSIDAD DE LOS LAGOS
PLANTA PROCESADORA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS
Casilla 933. E. mail. bronceros@ulagos.cl
OSORNO – CHILE

Palabras claves: procesamiento de subproductos, gelatina, colágeno, piel de salmón

RESUMEN

Se obtuvo gelatina a partir de piel de salmón atlántico, proveniente del desecho de la industria acuícola. Esta extracción se realizó mediante dos métodos. El primero utilizando ácido acético y el segundo utilizando una combinación de hidróxido de sodio, ácido sulfúrico y ácido cítrico.

En el método de extracción con ácido acético, las variables analizadas fueron el tiempo de remojo en ácido acético: 1, 2, 3, 4, 5 y 6 horas, y la proporción de materia prima:agua: 1:10 y 1:22, tanto en la etapa de pretratamiento y extracción respectivamente.

A partir de las 3h de remojo en ácido acético, existieron diferencias entre las proporciones de materia prima:agua, concluyendo que se obtenían mayores porcentajes de rendimientos con la relación materia prima y agua 1:22.

En el método con hidróxido de sodio, ácido sulfúrico y ácido cítrico, las variables analizadas fueron: temperatura, entre los rangos de 45-65°C, tiempo entre 4 y 12 horas y proporción materia prima:agua entre 1:5,5; 1:10 y 1:22. Todas las variables anteriores en la etapa de extracción.

Las condiciones óptimas para lograr el mejor rendimiento (8,57%), correspondió a una temperatura de 58°C, tiempo de 10 horas y relación materia prima:agua de 1:10, todas ellas en la etapa de extracción.

Manteniendo constante la temperatura y tiempo, se concluyó que con la proporción 1:10 se obtenían los mejores rendimientos.

INTRODUCCIÓN

La gelatina es uno de los biopolímeros más importante, con aplicaciones en la industria de alimentos, industria farmacéutica, cosmética e industria fotográfica. Es uno de los agentes más versátiles, utilizados en la elaboración de alimentos debido a que mejora las propiedades de los alimentos tales como elasticidad, consistencia y estabilidad, logrando una mejora también en la percepción de "derretimiento en la boca". Generalmente la gelatina es obtenida de la piel o el colágeno de los huesos de bovino, mediante aplicación de un tratamiento ácido o básico (Gómez-Guillén, Montero 2001; Haugh *et al.*, 2004).

Para los propósitos industriales, la principal fuente de gelatina proviene de bovinos y porcinos (animales de sangre caliente), y ésta se caracteriza y aprecia por su alto punto de fusión y gelificación, mayor al de la gelatina de peces de agua fría, sin embargo, existen muchos problemas sanitarios producidos por el uso de residuos de animales de sangre caliente. Por otra parte, enfermedades infectocontagiosas, así como, la enfermedad de las vacas locas, *Spongiform Encephalopathy Transmisible* (TSE), y la enfermedad de la boca (FMD) en los cerdos y ganado ha limitado el uso de colágeno derivado de éstos animales para los propósitos industriales, ya que se podrían transmitir sus enfermedades al ser humano (Gudmundsson y Hafsteinnsson, 1997).

Por otro lado, algunas ideologías no comparten la extracción de gelatina, a partir del colágeno extraído de cerdos debido a barreras religiosas.

Por consiguiente, muchos científicos han estado enfocando sus experimentos para averiguar fuentes alternativas de colágeno.

Ellos han encontrado colágeno en la piel, huesos y aleta de peces. Los peces proporcionan la mejor fuente de material crudo debido a su alta disponibilidad, ningún riesgo en la transmisión de enfermedad y barreras religiosas.

Chile es el segundo productor de salmón a nivel internacional y la producción sigue en aumento. Debido a las altas exigencias del mercado, el cual, pide cortes de salmón cada vez más específicos, se incrementan los niveles de residuos de esta industria. Esta situación crea la necesidad de buscar una mejor alternativa de utilización de estos desechos, además de la elaboración de harina y aceite de pescado.

Del total de residuo provenientes del procesamiento del salmón, el 30% corresponde a la piel. La composición química presenta un alto contenido de proteínas, principalmente de colágeno (Gómez-Guillén *et al.*, 2002; Haugh *et al.*, 2004).

Las moléculas de colágeno intersticial, esta compuesta de tres cadenas alfa entrelazadas en la estructura llamada, colágeno triple hélice. El grado de enlaces es altamente variable y depende del tipo de colágeno, tejido, especie de animal, edad, entre otro. Cuando el colágeno se desnaturaliza por hidrólisis ácida, se produce la gelatina. La calidad de la gelatina depende de sus propiedades fisicoquímicas, que son grandemente influenciadas no solo por la especie y el tejido del cual es extraído, sino también por la rigurosidad del método de procesamiento y formas de conservación del material crudo. Una optimización en el proceso de extracción y un mejor conocimiento de las propiedades de la gelatina de la piel de salmón puede favorecer el aprovechamiento de este recurso (Fennema, 2000).

MATERIALES Y MÉTODOS

Análisis de materia prima. Se realizó un análisis fisicoquímico de la materia prima tanto a la piel con escamas como a la sin escamas. Este análisis se realizó en el Centro de Análisis de Alimentos de la Universidad de los Lagos considerando los siguientes métodos: humedad, método termogravimétrico NCh 841. Of1978 (Chile, INN, 1978a), ceniza, NCh 842. Of1978 (Chile, INN, 1978b), proteína total, NCh 513. EO1968 (Chile, INN, 1968), extracto etéreo, método gravimétrico (A.O.A.C., 1990).

Preparación de la muestra. Las pieles de salmón Atlántico, con escamas, provenientes de la empresa Marine Harvest Chile llegaron congeladas en cajas isotérmicas de 20kg con gelpack para mantener las temperaturas de congelación. La piel fue descongelada, lavada y cortada en "tiras" de 4-5cm ancho para reducir el tamaño, facilitar la manipulación y el almacenamiento. Luego, se envasaron y almacenaron en bolsas de polietileno de aproximadamente 50g y 1kg para ser congeladas en forma seccionada hasta su posterior tratamiento.

Métodos de extracción

Extracción con ácido acético. Se utilizó ácido acético según lo recomendado por Gómez-Guillén y Montero (2001), con algunas modificaciones. En esta extracción se aplicaron dos ensayos, el primero con centrifugación y el segundo sin centrifugación.

Materia prima. Se descongeló la piel de salmón Atlántico con escamas previamente cortada y lavada.

Pretratamiento. Se remojó la piel en ácido acético 0,05M en una proporción de 35g de piel por 300-350mL de solución. Los tiempos de remojo fueron de 1, 2, 3, 4, 5, 6 horas para los distintos tratamientos.

Extracción. Terminada la etapa anterior, las muestras fueron depositadas en vasos precipitados para continuar con la etapa de extracción. Esta etapa se realizó a 45°C por 12 horas en baño María con agua desionizada. La variable de interés en esta etapa fue la relación materia prima: agua.

Las proporciones de materia prima:agua utilizadas fueron de 1:10 y 1:22. Cada tratamiento se realizó en triplicado.

Filtrado. La etapa de filtrado fue realizada en embudo Büchner utilizando papel filtro Whatman N°4.

Centrifugado. La solución obtenida se depositó en tubos especiales para ser centrifugada a 10000rpm durante 45min. La temperatura de la solución fue de 10°C. De los tubos se extrajo solo el sobrenadante, el cual fue depositado en recipientes plásticos para ser posteriormente deshidratado.

Secado. La solución fue deshidratada con aire a 55-60°C durante 12h.

Envasado. Finalizada la etapa de secado, las muestras fueron pesadas, para luego hacer las determinaciones de rendimiento.

Extracción con hidróxido de sodio, ácido sulfúrico y ácido acético. En la metodología usada en este caso, se utilizó: hidróxido de sodio, ácido sulfúrico y ácido acético, siguiendo el método recomendado por Gudmundsson y Hafsteinnsson (1997).

Materia prima. Al igual que la metodología anterior, la piel fue descongelada y luego cortada y lavada.

Pretratamiento. Las muestras tuvieron el siguiente tratamiento antes de la extracción:

- 1kg de piel fue remojado en 3L de NaOH 0,04N durante 30min, lavada y enjuagada con agua desionizada.
- En seguida, se remojó en 3L de H₂SO₄ 0,12M durante 30min, se lavó y se enjuagó con agua desionizada.
- Por último, la piel fue tratada con ácido cítrico 0,005M durante 30min.

El tiempo de remojo fue de 30min y finalizado el periodo, la piel fue lavada y enjuagada con agua desionizada.

Extracción. Se realizó con agua desionizada en baño María. Las variables de interés analizadas mediante un diseño factorial en triplicado fueron:

1. Relación Materia Prima: Agua: 1:1; 1: 5,5 y 1:10
2. Temperatura de extracción: 45, 55 y 65°C
3. Tiempo de extracción: 4, 8 y 12h

Filtrado, secado y envasado. Similar a metodología anterior.

Análisis de producto final. En la gelatina seca obtenida se determinó humedad, método termogravimétrico NCh 841. Of1978 (Chile, INN, 1978a). Con la cantidad de humedad, se calcularon los gramos de sólidos secos en cada uno de las muestras de gelatina deshidratada. Además, se determinó el rendimiento considerando los gramos de gelatina seca obtenida (g de sólido seco) con respecto a los gramos de muestra inicial (g piel salmón), y se realizó una inspección visual de color y olor.

RESULTADOS Y DISCUSION

Análisis de materia prima.

Cuadro 1: Análisis fisicoquímico en piel de salmón Atlántico

Análisis	Piel con escamas (en 100g)	Piel sin escamas (en 100g)
Humedad	68,68	59,82
Materia seca	31,32	40,18
Cenizas	2,29	0,90
Proteína	23,61	18,54
Extracto etéreo	5,42	19,41
E.N.N.	0,0	1,33

El análisis fisicoquímico en piel con y sin escamas, demostró que el contenido de proteína era mayor en la piel con escamas, en consecuencia, el estudio se orientó en este subproducto de la industria del salmón. En el Cuadro 1 se indica el detalle del análisis realizado.

Extracción con ácido acético. Los resultados obtenidos en la extracción realizada con ácido acético, y empleando una relación materia prima:agua 1:10 durante la extracción, se muestran en el Cuadro 2. En él se observa un rendimiento promedio de gelatina de 7,6% en base seca.

Cuadro 2: Extracción con ácido acético, usando relación 1:10 entre materia prima y agua.

Tratamiento N°	Tiempo de remojo en CH ₃ COOH (h)	Materia prima: agua	Humedad (%)	Rendimiento (% base seca)
1	1	1:10	11,69	7,52
2	2	1:10	10,63	8,89
3	3	1:10	12,98	7,12
4	4	1:10	10,79	7,41
5	5	1:10	12,37	7,23
6	6	1:10	10,38	7,27

En el Cuadro 3 se observa que utilizando una proporción materia prima:agua de 1:22, el rendimiento promedio fue superior al anterior, con un valor de 8,4%, en base seca

Cuadro 3: Resultados obtenidos en la extracción con ácido acético, usando relación 1:22 entre materia prima y agua.

Tratamiento N°	Tiempo de remojo en CH ₃ COOH (h)	Materia prima: agua	Humedad (%)	Rendimiento (% base seca)
1	1	1:22	10,65	7,85
2	2	1:22	11,23	8,96
3	3	1:22	11,13	8,13
4	4	1:22	10,99	8,49
5	5	1:22	11,16	7,48
6	6	1:22	10,51	9,53

El análisis de los rendimientos, se realizó por medio de una ANOVA de dos vías para las variables tiempo de remojo en ácido acético, y la relación materia prima:agua a un nivel de significancia del 5%. La variable tiempo de remojo en ácido acético resultó tener un efecto no significativo en el rendimiento. Similar comportamiento tuvo la proporción materia prima:agua. También se encontró, que a medida que aumenta la proporción materia prima:agua, aumentan los rendimientos, siendo mayores en la proporción 1:22, que en la relación 1:10.

Extracción con hidróxido de sodio, ácido sulfúrico y ácido cítrico. En el Cuadro 4, se indica la realización de un diseño factorial con un total de 17 experimentos que incluyó 6 puntos centrales.

Los rendimientos obtenidos con esta metodología son menores a los obtenidos por el método con uso de ácido acético. Esta diferencia puede deberse a sucesivos lavados a diferencia de la metodología de extracción con ácido acético que sólo requiere un lavado. Otra posible causa, es que, el ácido acético es un ácido débil, comparado con el ácido sulfúrico utilizado en este método.

Los parámetros estimados que conducen a un mayor rendimiento fueron: temperatura 58°C, 10h de extracción y relación de materia prima:agua de 1:10. El rendimiento óptimo alcanzó el 8,13% en base seca. La realización de un análisis de varianza, indicó diferencias significativas en el efecto de la relación materia prima:agua con respecto al rendimiento. Al comparar lo indicado en el análisis de varianza con los parámetros que permiten alcanzar un mayor rendimiento, se encontró que la utilización de la relación 1:10 fue la mejor. Por lo anterior, se puede suponer que la molécula de gelatina a una relación 1:5,5 es capaz de retener más agua, y que a una proporción 1:22 o superior, absorbe demasiado líquido, no pudiendo retener más en su matriz.

Cuadro 4: Matriz de planeamiento indicando el efecto en el rendimiento.

Tratamiento Nº	Materia prima: agua	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	Humedad (%)	Rendimiento (% base seca)
1	10	65	4	10,49	5,28
2	10	65	12	12,37	6,31
3	5,5	55	8	9,65	6,51
4	10	45	12	10,10	5,75
5	1	65	12	12,58	5,16
6	1	45	2	12,46	4,38
7	1	45	4	13,20	4,17
8	5,5	55	8	10,00	6,12
9	1	65	4	10,13	5,03
10	10	45	4	10,86	4,64
11	5,5	55	8	10,38	6,09
12	10	58	10	5,14	8,13
13	10	58	10	11,05	7,62
14	10	58	10	9,79	7,73
15	22	58	10	11,46	5,54
16	22	58	10	12,60	5,30
17	22	58	10	10,48	6,45

Inspección visual. En la extracción realizada con ácido acético, se obtuvo una gelatina de color café claro y de olor típico a pescado. El método que utilizó ácido sulfúrico, hidróxido de sodio y ácido cítrico permitió obtener una gelatina color amarillo claro, translúcida y de olor casi imperceptible a pescado debido posiblemente a que el método que utiliza ácido acético, por ser un ácido débil, no tenga la fuerza necesaria para eliminar gran parte de los pigmentos que se encuentran en la piel del salmón, además de considerar sólo el lavado para eliminar pigmentos responsable del olor, en comparación a la segunda metodología que ocupa hidróxido de sodio junto a ácido sulfúrico y ácido cítrico.

CONCLUSIONES

En relación a los resultados obtenidos en esta investigación, se concluye lo siguiente:

- La piel de salmón con escamas obtenida como desecho en la industria del salmón contiene una importante cantidad de proteína, lo cual se puede expresar como contenido de gelatina.
- Los rendimientos obtenidos en el método de extracción con ácido acético, fueron mayores en comparación con el uso de hidróxido de sodio, ácido sulfúrico y ácido cítrico.
- La gelatina obtenida por medio del método de extracción con hidróxido de sodio, ácido sulfúrico y ácido cítrico, presenta mejores características de color y olor, obteniéndose una gelatina translúcida, con un olor a pescado prácticamente imperceptible, situación que no ocurrió cuando se aplicó la extracción con ácido acético, ya que se obtuvo una gelatina de color café, con un olor típico a pescado.
- En el método de extracción con ácido acético:

- La etapa de centrifugación de la solución de gelatina no influye significativamente en los rendimientos.
- Al aumentar la proporción materia prima: agua, se obtienen rendimientos más altos.
- En el método de extracción con hidróxido de sodio, ácido sulfúrico y ácido cítrico:
- La relación de variables que permite encontrar un mayor rendimiento (8,6%) fue: temperatura 58°C, tiempo de 10 horas y relación materia prima:agua de 1:10.

Finalmente, se sugiere realizar un estudio de propiedades reológicas en la gelatina obtenida a partir de piel de salmón Atlántico, en simultáneo con los cálculos de rendimiento, ya que obtener mayores rendimiento en peso no necesariamente conlleva a una mejor calidad en gelatina.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen el apoyo de la empresa Marine Harvest ubicada en Puerto Montt, X Región, Chile, para la realización de esta investigación.

BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS

- Association of Oficial Analytical Chemists. 1990. Official Methods of Analysis, 15th Edition, Assoc. Of. Anal. Chem., U.S.A.
- Chile. Instituto Nacional de Normalización, INN. 1968. Materias Orgánicas. Determinación de Nitrógeno. Método de Kjeldahl. Norma Chilena 513.
- Chile. Instituto Nacional de Normalización, INN. 1978a. Alimentos. Determinación de humedad. Norma Chilena 841.
- Chile. Instituto Nacional de Normalización, INN. 1978b. Alimentos. Determinación de cenizas. Norma Chilena 842.
- Fennema, Owen. 2000. "Química de los Alimentos". Zaragoza, España. Editorial Acribia. pp: 466-469.
- Gómez-Guillén, M. y P. Montero. 2001. Extraction of gelatin from megrim (*Lepidorhombus boscii*) skins with several organic acids. Journal of Food Science. 66: 213-216.
- Gómez-Guillén, M., J. Tumay, M. Fernández-Díaz, N. Ulmo, N. Lizarbe y P. Montero. 2002. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: acomparative study. Food Hydrocolloids. 16: 25-34.
- Gudmundsson, M. y H. Hafsteinsson. 1997. Gelatin from cod skins as affected by chemical treatments. Journal of Food Science. 62: 37-39.
- Haug, I., K. Draget y O. Smidsrod. 2004. Physical and rheological properties of fish gelatin compared to mammalian gelatin. Food Hydrocolloids. 18: 203-213.

DESARROLLO DE UNA HERRAMIENTA COMPUTACIONAL PARA LA DETERMINACION DE CURVAS DE PENETRACION DE CALOR EN ALIMENTOS ENLATADOS "CPC PLUS"

Rodríguez Barragán, Oscar Alberto; Forero Longas, Freddy; Salamanca Grosso, Guillermo.
GRUPO DE INVESTIGACIONES MELLITOPALINOLOGICAS Y
PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE ALIMENTOS
UNIVERSIDAD DEL TOLIMA
IBAGUÉ-COLOMBIA

Palabras clave: Modelado y simulación. Inactivación térmica. Transferencia de calor. Herramienta de cálculo.

RESUMEN

Se ha desarrollado un material educativo computarizado (MEC), haciendo uso del lenguaje de programación hacia objetos, bajo plataforma BORLAND DELPHI™ 6.0. Se consideraron las soluciones explícitas asociadas al modelo de Fourier para la transferencia de calor por mecanismos conductivos en estado estacionario sobre cilindros finitos, usando envases de hojalata convencionales, especificando los microorganismos de mayor incidencia en la industria alimentaria. Se elaboraron bases de datos sobre la composición de los alimentos y las constantes cinéticas de inactivación (tiempo de reducción decimal y muerte térmica) de dichos microorganismos. Para los alimentos susceptibles de envasado se incluyó un sistema de cálculo para estimar sus propiedades térmicas (conductividad, difusividad y capacidad calorífica a presión constante), siguiendo los modelos de Choi & Okos. El sistema de transferencia de calor se modeló considerando un autoclave horizontal con operación a vapor de agua saturado y enfriamiento interno. Se fijó una red bidimensional de puntos nodales (81) a lo largo de la lata, siguiendo técnicas de discretización, evaluándose el efecto letal durante la transferencia de calor sobre un microorganismo en particular.

INTRODUCCIÓN

El estudio de las curvas de penetración de calor para la inactivación de microorganismos en alimentos, asegura la inocuidad de los productos y facilita la estimación de parámetros necesarios para la optimización de sistemas de transferencia de calor (Seenna, 1999).

En los procesos térmicos de alimentos, un rápido y uniforme calentamiento es esperado debido a que el efecto letal sobre el microorganismo objetivo puede ser alcanzado en el menor tiempo posible con una destrucción mínima en el color, la textura y los nutrientes de los alimentos. La penetración de calor en los alimentos envasados se cumple de manera compleja, debido a que la mayoría de las veces se tiene masa de producto que se calentará o enfriará dentro de un envase, y estos intercambios térmicos dependerán de algunos de los factores que deben ser seguidos durante el tratamiento (Jung, 1999; Jongen, 2002).

El factor más importante que limita la penetración de calor, es la naturaleza del alimento, además es la que condiciona el mecanismo de transmisión por el que va a producirse el intercambio térmico. (Casp, 2003). Indudablemente para estudiar el proceso de calentamiento de cualquier producto en su envase es necesario saber como evoluciona la temperatura en su interior, la cual deberá ser medida en el punto donde el calentamiento es más lento, también conocido como Punto Crítico, asegurando así que todos lo demás puntos hayan recibido un tratamiento térmico de mayor intensidad. (Bakalis, 2001)

Con este propósito distintos modelos matemáticos se han desarrollado, basados en soluciones analíticas a los problemas de transferencia de calor en alimentos, las condiciones del proceso y los constantes de resistencia térmica de los microorganismos. Entre los más destacados encontramos los desarrollados por Ball & Olson (1957), Hayakawa (1970), Jen et al (1971), y Pflug (1968).

MATERIALES Y MÉTODOS

Modelos Matemáticos: Para un calentamiento por conducción en una lata cilíndrica finita cuyas propiedades térmicas serán constantes a lo largo del proceso, la ecuación diferencial parcial gobernante es como se indica a continuación:

$$\frac{\partial T}{\partial t} = \alpha \left(\frac{\partial^2 T}{\partial r^2} + \frac{1}{r} \frac{\partial T}{\partial r} + \frac{\partial^2 T}{\partial h^2} \right) \quad \text{Ec. 1}$$

Donde: α es la difusividad térmica del producto (m^2/s); r es la distancia radial desde el eje vertical de la lata (m); h es la distancia vertical desde el eje horizontal de la lata (m); T es la temperatura ($^{\circ}\text{C}$) en el punto de interés y t es el tiempo al momento de interés transcurrido desde el momento previo al momento de interés. (Mohamed, 2003).

La solución de la ecuación 1 requiere la especificación de las coordenadas de la red nodal; las condiciones iniciales y límites para realizar la resolución del sistema son las siguientes:

- $T_{i,j} = T_p$ cuando $t = 0$
- $T_{i,j} = T_R$ cuando $r = R$, $h = 0$ y $h = H$

Özişık (1993) mostró que mediante la ley de L' Hospital's una modificación puede ser hecha para la ecuación 1, de esta manera se puede aplicar cuando $r=0$.

Si se pretende dominar un proceso térmico, es necesario disponer de un criterio para evaluar la eficacia del mismo; la influencia de la temperatura del autoclave sobre el alimento es establecida mediante las ecuaciones 2 y 3 que permiten determinar el valor esterilizador del tratamiento térmico como se indica a continuación:

$$L_T = 10^{\frac{T-T^*}{z}} \quad \text{Ec. 2}$$

Esta sería la relación de la letalidad entre dos tratamientos de 1 minuto, uno realizado a la temperatura de referencia (T^*) y otro a cualquier temperatura (T), para un microorganismo cuyo parámetro de resistencia vale z ($^{\circ}\text{C}$). Si el tratamiento es de t minutos tendremos

$$F_C = \int_0^t L(T) dt \quad \text{Ec. 3}$$

Donde F_C (min.), es el tiempo necesario para alcanzar la letalidad requerida, L (min.), es la porción de letalidad que el tratamiento genera sobre el alimento a una temperatura T ($^{\circ}\text{C}$). Para la esterilización de productos enlatados el valor F_C es medido en el centro geométrico de la lata o punto de más lento calentamiento; y su importancia radica en el hecho de que si el valor F_C obtenido para un producto bajo un tratamiento térmico es mayor que el mínimo especificado para el proceso, entonces los demás puntos en la lata habrán alcanzado al menos el mínimo requerido y se podrá asegurar que el producto es comercialmente estéril.

Discretización: La discretización consiste en tomar intervalos finitos pero suficientemente pequeños en el tiempo y en el espacio, estudiando la transferencia de calor en cada elemento en condiciones variables y dispares (Hernida, 2000). La técnica de diferencia finita establece una red bidimensional de puntos nodales a lo largo de la lata. De acuerdo a la ley de la simetría, es necesario tan solo establecer la red nodal para un cuadrante de la sección a través de la lata como se muestra en la figura 1. Tres incrementos deben ser declarados: el cambio en la distancia radial desde el eje vertical (Δr); el cambio en la

distancia vertical desde el eje horizontal (Δh); y el cambio de tiempo desde el comienzo del proceso térmico hasta el momento bajo consideración (Δt).

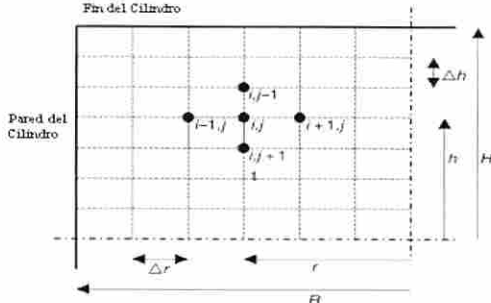


Figura 1. Red nodal para un cilindro finito.

La temperatura de un nodo localizado en la columna i , y la fila j , del tiempo nodal t , es descrito como $T_{i,j}^{(t)}$; al tiempo $t + (\Delta t)$ como $T_{i,j}^{(t+\Delta t)}$; cuando ocurra un incremento radial desde el eje vertical como $T_{i+1,j}^{(t)}$; y para un incremento vertical lejos del eje horizontal como $T_{i,j+1}^{(t)}$. De igual manera los subíndices de T son expresados como $i-1$ o $j-1$ si la posición del nodo bajo consideración esta más cerca del eje vertical u horizontal. La discretización usada en esta herramienta, implementa una malla de 81 nodos, los cuales abarcan un plano que cubre la totalidad de la lata, ubicando el punto frío en el centro del mismo.

Implementación: El entorno de programación DELPHI 6.0 tiene múltiples ventajas, al desarrollar software para ingeniería, ya que al ser un lenguaje estructurado, permite crear rutinas de cálculo complejas, como es el caso del software que se realizó. Al presentar reglas sencillas de sintaxis, permite un entendimiento más profundo del código fuente que se esta escribiendo, facilitando así la programación de las ecuaciones, el lenguaje utiliza palabras básicas del inglés que son de fácil comprensión e interpretación.

RESULTADOS

En la validación de la herramienta desde el punto de vista práctico se consideró el agente patógeno *Clostridium botulinum* frecuentemente tomado como referencia en los estudios de inactivación térmica. (Forsythe, 2003) Fijando las condiciones de procesado en la herramienta. Producto: Fresas; Envase: lata 99 mm x 102 mm (400x401), con una temperatura de llenado de 60 °C; Temperaturas (Autoclave) inicial, de mantenimiento y enfriamiento: 30, (120, 130, 140 y 150) y 20 °C respectivamente, con una población de *C. botulinum* inicial de 1×10^7 y final de 1×10^{-5} ufc/g ($F= 2.52$ min.). Los tiempos de calentamiento y enfriamiento son 20 y 40 minutos. Se evaluaron los perfiles de temperatura para la autoclave y la curva de penetración de calor en el producto de la referencia; como se muestra en la Figura 2

Los perfiles observados a través de la herramienta *C.P.C Plus*®, son análogos a los reportados en la literatura por Casp (2003), para la esterilización por conducción; en los que se observan las tres etapas del proceso; una etapa inicial de calentamiento en donde la temperatura del producto sigue la del recinto con un retraso, función de su naturaleza y el envase; una segunda etapa de mantenimiento en la que el producto tiende a igualar la temperatura del recinto; y una etapa final de enfriamiento en la que la temperatura del producto es siempre mayor a la del recinto.

Los perfiles observados a través de la herramienta *C.P.C Plus*®, son análogos a los reportados en la literatura por Casp (2003), para la esterilización por conducción; en los que se observan las tres etapas del proceso; una etapa inicial de calentamiento en donde la temperatura del producto sigue la del recinto con un retraso, función de su naturaleza y el envase; una segunda etapa de mantenimiento en la que el producto tiende a igualar la temperatura del recinto; y una etapa final de enfriamiento en la que la temperatura del producto es siempre mayor a la del recinto.

En el caso que nos ocupa, la imposición de condiciones bajas en un sistema de autoclavado para esterilización, hacen que la fase de mantenimiento del proceso se vea incrementada

respecto de aquellas donde la condición térmica es mas severa; de otra parte la letalidad estimada en cada caso será mayor cuanto mayor sea la temperatura de mantenimiento. Desde el punto de vista práctico sería conveniente evaluar las propiedades organolépticas del producto y su estabilidad durante la vida en anaquel.

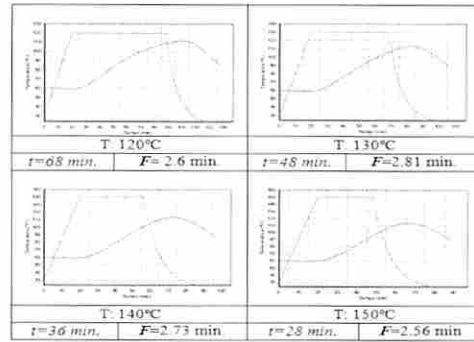


Figura 2. Curvas del proceso de esterilización de una conserva de fresa contaminada con *Cl. botulinum*.

CONCLUSIONES

CPC PLUS permite identificar, correlacionar y modelar la evolución del las curvas de penetración de calor, en sistemas enlatados bajo tratamientos térmicos encaminados a la inactivación microbiana, a partir de datos experimentales o reportados en la literatura sobre microbiología industrial y verificar las variables relacionadas en la cinética de la destrucción microbiana y que de manera significativa influyen en la evolución de los perfiles de temperatura en los sistemas enlatados. La elaboración de la herramienta, permite evaluar las curvas de penetración de calor alimentos mediante el dominio de las variables que intervienen en un proceso de esterilización de latas. *CPC plus* aborda la valoración del tratamiento térmico teniendo en cuenta todas las variables inmersas en el proceso de esterilización de alimentos enlatados, de esta manera el usuario puede seleccionar el tipo de alimento y la especie contaminante que desee inactivar; de igual manera determina las condiciones del tratamiento haciendo más versátil su uso, para obtener la final una informe que comunica los detalles de la aplicación.

Este trabajo contribuye significativamente al proceso de formación ingenieril de con énfasis en el desarrollo de herramientas aplicativas, complementarias enfocadas a la microbiología de alimentos.

BIBLIOGRAFÍA

BAKALIS, S.; COX, P.W. 2001 Thermal Technologies in Food Processing: Modelling Particular Thermal Technologies. Woodhead Publishing, Inglaterra.
 CASP, A.; ABRIL, J. 2003. Procesos de Conservación de Alimentos. 2ª ed. Ediciones Mundi-Prensa. España. 494 p.
 FORERO, F.; PULIDO, A. 2004. Diseño de un sistema de climatización para la conservación de muestras de madera en el laboratorio de Ingeniería Forestal de la Universidad del Tolima y desarrollo de un software para el cálculo de cargas térmicas. Universidad del Tolima. 144 p.
 FORSYTHE, S. 2003. Alimentos Seguros: Microbiología. Acribia, España
 GEANKOPLIS, C. 1998 Procesos de Transporte y Operaciones Unitarias. 3ª ed. CECSA. México. 1008 p.
 GHANI, Abdul et al.(1999) An Investigation of deactivation of Bacteria in a Canned Liquid Food during Sterilization Using Computational Fluid Dynamics (CFD). In : *Journal of Food Engineering*. Vol. 42 (1999); p. 207-214.
 HERMIDA, J. R. 2000. Fundamentos de Ingeniería de Procesos Agroalimentarios. Grupo Mundi-Prensa. España 463 p.
 JUNG, A.; FRYER P.J. 1999 Optimising the quality of safe food : Computational modelling of a continuous sterilisation process. In : *Chemical Engineering Science*. Vol. 54 (1999); p. 717-730
 JONGEN, W. 2002 Fruit and Vegetable Processing. Improving Quality. CRC Press. Estados Unidos
 MARIQUE, P. 2006. Predicción del Crecimiento e inactivación de microorganismos patógenos en productos agroalimentarios mediante herramientas de simulación. Universidad del Tolima 124 h.
 MOHAMED, I. 2003 Computer Simulation of Food Sterilization using an Alternating Direction Implicit Finite Difference Method. In : *Journal of Food Engineering*. Vol. 60 (0); p. 301-306
 ÖZİŞK, K. 1993. Heat conduction (2nd ed., p. 460). New York:John Wiley & Sons.
 RAO, M.; DATTA, A. 2005. Engineering Properties of Foods. CRC Press. Estados Unidos.
 RICHARDSON, P. 2004 Improving the Thermal Processing of Foods. CRC Press. Estados Unidos.
 SCENNA, N 1999 Modelado, Simulación y Optimización de Procesos Químicos. Editorial de la Universidad Tecnológica Nacional. Argentina. 841 p.

DETERMINACIÓN DE LA MÁXIMA RETENCIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO EN LA ELABORACIÓN DE LA CONSERVA DE AGUAYMANTO (*Physalis peruviana*) EN ALMÍBAR APLICANDO EL MÉTODO SUPERFICIE DE RESPUESTA

Encina Zelada, Christian Rene y Ureña Peralta, Milber O.
UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Av. La Molina s/n. Lima 12. Perú. Fax: 51-1- 3495764 E-mail: cencina@lamolina.edu.pe
LIMA - PERÚ

Palabras clave: Procesamiento de alimentos y de subproductos, *Physalis peruviana*, ácido ascórbico, conserva de aguaymanto, superficie de respuesta.

RESUMEN

Se determinaron parámetros de pH del almíbar (3,0) y de temperatura del tratamiento térmico (93°C) que hacen máxima la retención de ácido ascórbico en la conserva de aguaymanto (*Physalis peruviana*) en almíbar, mediante la aplicación del método de Superficie de Respuesta ($\alpha=0,05$). El pH del almíbar y la temperatura del tratamiento térmico resultaron ser los factores de mayor influencia en la retención del ácido ascórbico según el *screaming* realizado por el método Taguchi según lo reportado por Encina (2005) en la que se encontró que los niveles con los que se retuvo mayor cantidad de ácido ascórbico fueron: tiempo de desecado (90 s), temperatura del desecado (80°C) concentración del NaOH en el desecado (0,05%), pH del almíbar (2,5), grados Brix del almíbar (30), temperatura (95°C) y tiempo (11,52 min) del tratamiento térmico. Se ensayó con frutos provenientes del valle del Mantaro (Huancayo-Perú). Así mismo, se realizó un análisis proximal de la materia prima destacándose un contenido de ácido ascórbico de 28,55 mg/100 g fruta para un estado de madurez intermedia y después de su maximización durante todo el proceso tecnológico el mejor tratamiento fue aquel donde se obtuvo una retención del 50,54% en la conserva.

INTRODUCCIÓN

El aguaymanto (*Physalis peruviana*), uchuva, uvilla o también conocida como golden berry (Alarcón, 2002), está siendo introducido paulatinamente en el mercado internacional principalmente por su sabor y características medicinales. En el Perú, según Bernal (1986), se cultiva principalmente en los departamentos de Cajamarca, Junín y Cusco. En otras zonas, como en el valle del Mantaro, se les conoce como capulí. Según el MINAG (2005), es una buena fuente de vitamina C (20 – 40 mg/100 g), provitamina A (3 000 U.I. de caroteno por 100 g) y vitaminas del complejo B. La proteína (0,3%) y el fósforo (0,55mg/100 g) que contiene son excepcionalmente altos para una fruta. A pesar de estas cualidades el cultivo de aguaymanto no se ha desarrollado mucho en el Perú, restringiéndose a cantidades mínimas que sólo se expenden en las ferias locales. El desarrollar nuevas propuestas para su procesamiento puede propiciar su revalorización y producción a mayor escala, además de poner al alcance de las personas sus propiedades nutritivas y medicinales. Es así que esta investigación tuvo como objetivos el determinar los parámetros de pH del almíbar y temperatura del tratamiento térmico, aplicando el método de Superficie de Respuesta, que hacen maximiza la retención de ácido ascórbico de este fruto en conserva.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales.

Se trabajó con aguaymanto (*Physalis peruviana*) procedente del Valle del Mantaro, azúcar blanca refinada, envases de vidrio de 393 ml de capacidad (C-246) con tapas metálicas de 63 mm, ácido cítrico grado alimentario con 99,5% de pureza. Los análisis se realizaron en los laboratorios de Físico-Químico, Instrumentación y Biotecnología, Microbiología y Planta Piloto de Alimentos; instalaciones pertenecientes a la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional. Para el tratamiento térmico se empleó un autoclave

de fabricación nacional, con vapor como medio de calentamiento, con capacidad para 20 envases tipo C-246.

Métodos.

Preparación del producto

Para obtener el producto, se utilizó un equipo autoclave vertical (Modelo 12AA 10, Serie 67013) de fabricación nacional, en el cual se introdujo el producto con el Sistema DATATRACE TEMP[®] SYSTEM, el cual está constituido por un dispositivo que registra la temperatura y el tiempo, llamado TRACER MICROPACK[®], un módulo PC Interfície utilizado para programar y leer los *tracers*, y el Software Datatrace para Windows 95[®].

Análisis fisicoquímicos

Se realizó el análisis proximal a la materia prima y a la conserva de aguaymanto, el que consistió en la determinación de humedad, proteína, grasa, fibra, ceniza, acidez total, pH, sólidos solubles, azúcares reductores, todos según las metodologías descritas por la AOAC (1995), adicionalmente se determinó el índice de madurez según la norma técnica Colombiana ICONTEC (1999).

Entre los análisis físicos realizados a la materia prima tenemos el de tamaño y peso según las normas ICONTEC (1999), mientras que a la conserva se le realizaron la medición del peso bruto, peso neto y peso escurrido, medición del volumen de líquido de gobierno y del vacío según la metodología de la AOAC (1995).

Para los análisis microbiológicos se realizó el recuento total de microorganismos aerobios y recuento total de mohos y levaduras según la ICMSF (2000).

Para la cuantificación del ácido ascórbico se siguió la metodología descrita por la AOAC (1995) entre los cuales necesitamos los reactivos como el 2,6 Diclorofenol-indofenol, ácido ascórbico estándar.

Metodología experimental

Etapas 1: Caracterización de la Materia Prima

A. Análisis Físico-químico

Se determinó la composición físico-química de los frutos mediante análisis proximal con énfasis en la determinación de ácido ascórbico del aguaymanto.

B. Análisis Físico

Se determinó el estado de madurez más aceptable para el fruto en almíbar, según Norma Técnica NTC 4580 (ICONTEC, 1999).

C. Análisis Microbiológico

Se realizó un análisis microbiológico de la materia prima antes de su ingreso al tratamiento térmico. El cálculo de este valor dio a conocer el grado de contaminación microbiana de la materia prima y, a partir de él, se determinó el valor del tiempo de tratamiento térmico (P_0 o UP) requerido para el procesamiento de la conserva en almíbar; para tal fin se determinó la cantidad total de mohos (ICMSF, 2000).

Etapas 2: Optimización de la retención de ácido ascórbico durante la elaboración de la conserva de aguaymanto en almíbar

Conocidos los parámetros de penetración de calor y con los reportados por Encina (2006) así como los factores de mayor influencia en la retención del ácido ascórbico según el

screening realizado por el método Taguchi según lo reportado por Encina (2005), se maximizó la retención de ácido ascórbico aplicando el método de Superficie de Respuesta con los factores pH del almíbar y temperatura del tratamiento térmico, según diseño experimental propuesto y siguiendo el diagrama de flujo que se muestra en la Figura 1.

Diseño experimental y análisis estadístico

La optimización mediante Superficie de Respuesta ($p < 0,05$) se realizó aplicando el arreglo factorial 3^n , donde n es el número de factores que afectan significativamente la retención del ácido ascórbico ($n=2$) y 3 es el número de niveles a ensayar por factor (Cuadros 1 y 2). Los niveles con mayor valor de ETA (Encina, 2005) fueron considerados como los valores intermedios del factorial y se muestran en la Tabla 1. Las pruebas se hicieron por duplicado. Para el tratamiento de los resultados experimentales se utilizó el paquete estadístico Statgraphic®.

Tabla 1. Niveles de factores para la optimización de la retención de ácido ascórbico en la conserva de aguaymanto en almíbar.

Nivel	-1	0	1
Temperatura del Tratamiento Térmico (°C)	90	95	100
pH del almíbar	2	2,5	3

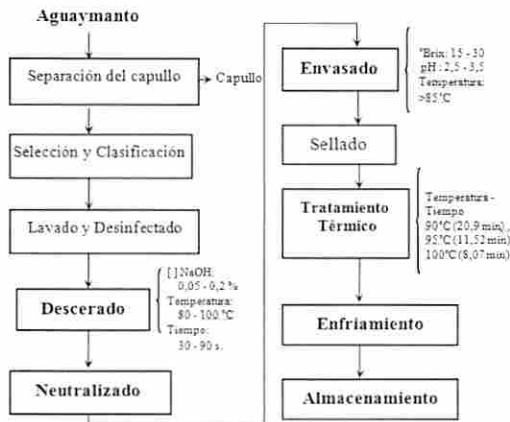


Figura 1. Diagrama de flujo propuesto para la elaboración de la conserva de aguaymanto en almíbar maximizando la retención de ácido ascórbico mediante el método de superficie de respuesta.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de la materia prima

Análisis proximal

Se encontró un contenido de ácido ascórbico (28,55 mg / 100 g de fruto) se encuentra dentro del rango reportado por varios autores, así el valor determinado es menor al reportado por Tapia (2000), valor de 43 mg %, pero mayor al reportado Bernal (1986) de 20 mg %. De acuerdo con Davies y Albrigo (1994), los niveles de ácido ascórbico en los frutos son variables tendiendo a disminuir estacionalmente. Estos valores pueden diferir por varios factores, entre ellos: suelo, clima, labores culturales, variedad, estado de madurez, etc.

El porcentaje de sólidos solubles promedio fue de 12,5. Morín *et al.* (1985) indican que la cantidad de sólidos solubles que contiene el jugo de una fruta cítrica es también un índice del grado de madurez de la misma. La norma técnica de Colombia (ICONTEC, 1999) del aguaymanto establece como un grado Brix mínimo para el estado de madurez intermedia (“color dos y tres”) de entre 13,2 y 14,1; mostrando así que el fruto del Perú tiene un menor contenido de sólidos solubles, lo que posiblemente se deba a las diferencias entre el aguaymanto producido en Colombia y con el proveniente del valle del Mantaro.

Optimización de la retención de ácido ascórbico durante la elaboración de la conserva de aguaymanto en almíbar

Después de realizada las 9 combinaciones de experimentos con sus respectivas repeticiones, siguiendo el flujo de procesamiento presentado en la Figura 1 y según las variables presentadas en la Tabla 2, se evaluó la concentración de ácido ascórbico obtenido después de cada tratamiento, resultados que se muestran la Tabla 3. Estos valores fueron evaluados mediante el análisis estadístico de superficie de respuesta para la característica mg de ácido ascórbico/100 g de muestra para los factores en estudio pH del almíbar (factor A) y la temperatura del tratamiento térmico (factor B).

De la superficie obtenida se observa que al prolongar las curvas de nivel o contornos de la superficie, se tiene una tendencia hacia lo óptimo para niveles máximos de pH y medios de temperatura del tratamiento térmico. Del análisis de varianza se encontró que el factor B es significativo ($p < 0,05$), mientras que no lo fue el factor A, así mismo se encontró que no hay diferencia significativa entre las repeticiones. Al analizar tales figuras y cuadros se concluyó que el gráfico de superficie de respuesta obtenida no mostró un óptimo de los niveles de temperatura del tratamiento térmico y pH del almíbar, pero al prolongar las curvas de nivel o contornos de la superficie, se observó una tendencia hacia lo óptimo para niveles máximos de pH y medios de temperatura del tratamiento térmico.

En la Tabla 2 se presentan los factores y sus niveles que se ensayaron en el proceso de elaboración de la conserva de aguaymanto en almíbar: temperatura (E) y tiempo del descerado (B) y concentración de NaOH (C); grados Brix (D) y pH (A) del almíbar y temperatura (F) y tiempo (G) de pasteurización para obtener un $P_0 = 5$ minutos (Encina, 2006).

Tabla 2. Tratamientos aplicados para la optimización de la retención de ácido ascórbico.

Trat.	A (pH)	B (s)	C (°C)	D (°C)	E (%)	F (°C)	G (min)
1	2	90	80	30	0,05	100	8,07
2	2,5	90	80	30	0,05	90	20,90
3	2	90	80	30	0,05	90	20,90
4	2,5	90	80	30	0,05	95	11,52
5	2,5	90	80	30	0,05	100	8,07
6	2	90	80	30	0,05	95	11,52
7	3	90	80	30	0,05	95	11,52
8	3	90	80	30	0,05	100	8,07
9	3	90	80	30	0,05	90	20,90
1*	2	90	80	30	0,05	100	8,07
2*	2,5	90	80	30	0,05	90	20,90
3*	2	90	80	30	0,05	90	20,90
4*	2,5	90	80	30	0,05	95	11,52
5*	2,5	90	80	30	0,05	100	8,07
6*	2	90	80	30	0,05	95	11,52
7*	3	90	80	30	0,05	95	11,52
8*	3	90	80	30	0,05	100	8,07
9*	3	90	80	30	0,05	90	20,90

Tabla 3. Resultados del análisis de cuantificación del ácido ascórbico de los diferentes tratamientos ensayados.

Tratamientos	ÁCIDO ASCÓRBICO (mg/100g)
1	19,92 ± 0,02
2	15,27 ± 0,04
3	18,98 ± 0,03
4	17,24 ± 0,05
5	18,30 ± 0,03
6	19,73 ± 0,06
7	14,19 ± 0,04
8	14,99 ± 0,04
9	13,20 ± 0,03

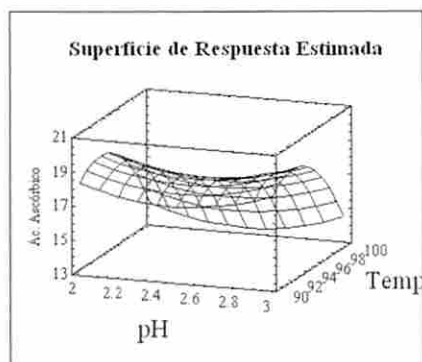


Figura 2 Superficie de Respuesta – mayor retención de ácido ascórbico.

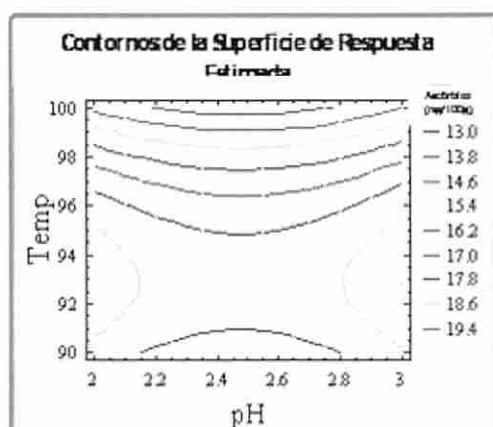


Figura 3. Curvas de nivel de la Superficie de Respuesta – mayor retención de ácido ascórbico.

En la Tabla 4 se presentan los tratamientos que maximizan la retención de ácido ascórbico en la elaboración de conserva de aguaymanto en almíbar aplicando Superficie de Respuesta.

Tabla 4. Tratamientos que maximizan la retención de ácido ascórbico en la elaboración de conserva de aguaymanto en almíbar aplicando Superficie de Respuesta.

FACTORES	PARÁMETRO
Concentración del NaOH en el Descerado (%)	0,05
Temperatura del Descerado (°C)	80
Tiempo del Descerado (segundos)	90
Grado Brix del Almíbar	30
pH del Almíbar	3,0
Temperatura del Tratamiento Térmico (°C)	93
Tiempo del Tratamiento Térmico (minutos)	13,98

CONCLUSIONES

La máxima retención de ácido ascórbico en la conserva en almíbar de aguaymanto proveniente de Huancayo-Perú, determinada empleando el Superficie de Respuesta, fue de 50,54%, obtenida con un pH del almíbar (3,0); concentración de NaOH, tiempo y temperatura del descerado (0,05%, 90 s y 80°C); grados Brix del almíbar (30); temperatura y tiempo del tratamiento térmico (93°C y 13,98 min).

AGRADECIMIENTOS

A la UNALM y a su Facultad de Industrias Alimentarias.

REFERENCIAS

- Alarcón, J. 2002. Caracterización Citogenética y Respuesta al Cultivo in Vitro de Tres Acciones de *Physalis peruviana* L. Tesis UNALM. p 12-13.
- AOAC., 1995. Official Methods of Analysis, 16th edition. Association of Official Analytical Chemists. Washington DC. p 1058-1059.
- Bernal, J. 1986 Ciencia y Agricultura: "Generalidades sobre el cultivo de la Uchuva". Facultad de Ciencias Agropecuarias UPTC - TUNJA. Editorial Rana y el Águila. Colombia. p 20-32.
- Davies, F. Y Albrigo, G. 1994. Cítricos. Editorial Acribia. Zaragoza, España. p 15-17.
- Encina, C. 2005. Determinación de la máxima retención de ácido ascórbico de la conserva de aguaymanto (*Physalis peruviana*) en almíbar aplicando los métodos Taguchi y Superficie de Respuesta. Tesis para optar el título de Ing. en Ind. Alimentarias. UNALM. p 146.
- Encina, C. 2006. Influencia del descerado y composición del almíbar en la optimización del tratamiento térmico de conserva de aguaymanto (*Physalis peruviana*, Linnaeus. 1753) para la mayor retención de ácido ascórbico. Tesis para optar el grado de Magister Scientiae. UNALM. p 112.
- ICMSF. 2000. Microorganismos de los Alimentos, su significado y métodos de numeración. Segunda edición. Tomo II. Editorial Acribia. Zaragoza. España. p 130-135.
- ICONTEC 1999, Norma Técnica NTC 4580. Uchuva (*Physalis peruviana*). para el consumo fresco o destinado al procesamiento industrial. Colombia. p 1-10.
- MINAG. 2005. Informe anual del Ministerio de Agricultura. p 230.
- Morin, CH.; Salas, F. y San Martín, A. 1985. El cultivo de los cítricos. Departamento de Horticultura. UNALM. Lima-Perú. p 12-15.
- Tapia, M. E. 2000. Cultivos andinos subexplotados y su aporte a la alimentación. Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Santiago. p 11-12.

UTILIZACION DE LA HARINA DE PALMA COROBA (*Attalea macrocarpa*) COMO SUSTITUTO PARCIAL DE LA HARINA DE TRIGO EN LA ELABORACION DE PAN

Douglas Rafael Belén Camacho^{1*}, José Marcano¹, Luis Pérez García¹, Rafael Alemán², Mario Moreno Álvarez¹, David García¹ y Carlos Medina¹.

¹Universidad Nacional Experimental Simón Rodríguez, Laboratorio de Biomoléculas, carretera Canoabo-Urama, sector Los Naranjos, parroquia Canoabo, municipio Bejuma, estado Carabobo-República Bolivariana de Venezuela. Telf.: 0249-8083430. E-mail: biomoleculasdrbc@hotmail.com,

²Universidad de Oriente, Núcleo Anzoategui. E-mail: reas1@hotmail.com. *Autor para la correspondencia.

Palabras clave: palma coroba, *Attalea*, panificación, trigo.

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la incorporación de la harina desgrasada del mesocarpio del fruto de palma coroba (*Attalea macrocarpa*) en la elaboración de pan de molde. La harina de coroba fue obtenida a partir del mesocarpio separado de un lote de 100 kg de frutos maduros recolectados en Caicara del Orinoco (Estado Bolívar-Venezuela); su composición proximal fue: humedad 7,50 %, proteína cruda 3,19 %, grasa cruda 2,54 %, ceniza 3,33 %, fibra cruda 3,46 %, carbohidratos (por diferencia) 79,98 %. Se elaboró un pan control (PC) cuya fórmula contempló 57,64 % de harina de trigo (HT) y tres productos (F-I, F-II y F-III) diferenciados del PC en la harina utilizada, la cual fue una mezcla de harina de trigo (HT) y de coroba desgrasada (HC) en las siguientes proporciones porcentuales HT/HC: F-I 90/10, F-II 80/20 y F-III 70/30. La evaluación microbiológica mostró poblaciones de mohos, levaduras y aerobios mesófilos acordes con los requisitos de las normativas venezolanas. La evaluación sensorial de los productos elaborados con HC presentó a la muestra F-II con la mayor aceptación ($p < 0,05$). F-II mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) en los contenidos de proteína (7,25 %), ceniza (1,51 %) y fibra cruda (1,12 %), respecto al control, cuyos valores fueron 9,83 %, 1,10% y 0,50 %, respectivamente. El mesocarpio de la coroba es una materia prima endógena de potencial utilidad para la industria panadera como sustituto parcial de la harina de trigo.

INTRODUCCIÓN

La República Bolivariana de Venezuela presenta una alta dependencia de la importación de materias primas, insumos y productos terminados para satisfacer las necesidades internas de alimentos, situación que obliga la búsqueda de fuentes nutricionales alternativas dentro de la inmensa diversidad de recursos agroalimentarios existentes en su territorio. Uno de los rubros que en su totalidad es importado es el trigo, que transformado en harina es utilizado en la fabricación de productos de gran consumo, siendo el pan uno de los más comunes y de mayor demanda.

Sin embargo, la harina de trigo permite la mezcla con otras materias, caracterizadas por un alto contenido de almidón, hasta proporciones que no modifican considerablemente las características reológicas requeridas en masas destinadas a la panificación (Pacheco-Delahaye y Testa, 2005), aspecto que abre la posibilidad de incluir ingredientes de origen vegetal que hasta el momento son poco aprovechados; una materia prima con alto potencial para este fin es el fruto de la palma coroba.

La palma coroba (*Attalea macrocarpa*) es una especie silvestre representativa del municipio Cedeño (Estado Bolívar-Venezuela), localizado en la zona alta del río Orinoco. Su fruto posee un mesocarpio comestible, que es empleado en la preparación de alimentos típicos de la región, y un endospermo del cual se extrae aceite mediante técnicas artesanales (Belén, 2000). El mesocarpio representa alrededor del 20 % de la masa total del fruto y es una importante fuente

de grasa, ácidos grasos mono y poli-insaturados, almidón, carotenoides, fibra dietética, azúcares y minerales, aunque posee bajo contenido de proteína (Belén *et al.*, 2001; Alemán *et al.*, 2002; Belén-Camacho *et al.*, 2005). Estudios realizados con la harina obtenida del mesocarpio (Salazar, 2001; Belén *et al.* 2004), han evidenciado que ésta posee características funcionales y viscoamilográficas que recomiendan su uso en la formulación de alimentos que convencionalmente incluyen al trigo como componente principal.

El objetivo de esta investigación fue evaluar físico-química, microbiológica y sensorialmente pan de molde formulado sustituyendo parcialmente harina de trigo con proporciones de harina de coroba desgrasada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de la harina desgrasada de coroba

Se empleó un lote de 100 kg de frutos maduros de palma coroba, recolectados en Caicara del Orinoco (Municipio Cedeño, estado Bolívar-Venezuela), sin daños físicos aparentes, los cuales fueron procesados hasta su conversión en harina siguiendo la metodología descrita por Belén *et al.* (2000), sometida a extracción con n-hexano según procedimiento descrito por Alemán *et al.* (2002), para disminuir su contenido de grasa.

Composición proximal de la harina

Mediante metodologías de la AOAC (1990) se le determinó: humedad, proteína cruda (Kjeldahl, N x 6,25), grasa cruda (Soxhlet), ceniza y fibra cruda; el contenido de carbohidratos se estableció por diferencia. Igual determinación se le realizó a la harina de trigo utilizada.

Elaboración del pan

Se preparó un pan control (PC) con la siguiente fórmula base: harina de trigo (HT; producto comercial de panadería) 57,64 %, azúcar refinada 8,64 %, sal de mesa 1,44 %, manteca vegetal 1,73 %, levadura (producto comercial prensado marca Levapan) 1,73 %, agua potable 28,82 %. Los panes en estudio se diferenciaron del PC en la harina utilizada, la cual fue mezcla de HT con harina de coroba (HC) en tres formulaciones (F) con las siguientes proporciones HC/HT, establecidas a partir de datos de ensayos previos: F-I 10/90, F-II 20/80 y F-III 30/70. La elaboración se llevó a cabo en un establecimiento comercial productor de pan siguiendo el procedimiento descrito por Pacheco-Delahaye y Testa (2005).

Evaluación microbiológica de los panes

Se determinó recuentos de: aerobios mesófilos (COVENIN, 1978 a), mohos y levaduras (COVENIN, 1978 b).

Evaluación sensorial

A los panes contentivos de HC se les evaluó los atributos: apariencia general, olor, sabor y textura; no se realizó comparación con el control debido a que se observaron diferencias marcadas en olor y apariencia impartidas por la harina de coroba. Se empleó un panel de 30 consumidores de ambos sexos y edades comprendidas entre 18 y 25 años. El procedimiento y análisis de la información fue el descrito por Reyes *et al.* (2004).

Características fisicoquímicas del producto

Al pan de mayor preferencia en la evaluación sensorial y al control, se les determinó (AOAC, 1990): humedad, proteína cruda (Kjeldahl, N x 6,25), grasa cruda (Soxhlet), ceniza, fibra cruda. Carbohidratos fue calculado por diferencia. La textura fue medida con un texturómetro marca SMS modelo TAX2.

Análisis estadístico

Los resultados fueron analizados estadísticamente a través del programa SAS (1992).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla I se resume la composición química proximal de las harinas de coroba y de trigo empleadas en la preparación del pan. La composición de la harina de trigo (HT) es similar a la señalada por el INN (2001). La harina de coroba (HC) presentó un contenido proteico bajo, característica que ha sido señalada en otras investigaciones (Belén *et al.*, 2001; Belén *et al.*, 2005); la mezcla con la HT compensa esta deficiencia. Igualmente exhibió importantes aportes en cenizas, que permite inferir una alta concentración de minerales, y de fibra; Belén *et al.*, (2005) han determinado en el mesocarpio de la coroba calcio (81,2 mg/100 g), fósforo (70,0 mg/100 g) y fibra dietética (Insoluble 7,12 %; soluble 5,73 %), lo que le da importancia desde el punto de vista nutricional dados los efectos favorables a la salud asociados a estos constituyentes (Mälkki, 2001). La HC también mostró un contenido *graso* bajo; este descenso es atribuido al desgrasado aplicado al mesocarpio seco, ya que Belén *et al.*, (2001) han señalado para HC, con un contenido de humedad similar, una proporción de *grasa* de 31,90 %. Desde el punto de vista tecnológico, un bajo contenido *graso* disminuye los riesgos de rancidez oxidativa, mientras que desde el punto de vista nutricional la fracción lipídica del mesocarpio de la coroba reviste interés por la presencia de ácidos grasos insaturados benéficos para la salud humana (Alemán *et al.*, 2002).

Tabla I. Composición proximal (% m/m) de harina de trigo (HT) y harina de coroba (HC) utilizadas en el estudio.

Producto	Humedad	Proteína	Grasa	Cenizas	Fibra	Carbohidratos
HC	7,50	3,19	2,54	3,33	3,46	79,98
HT	12,12	13,85	1,00	0,56	0,80	71,67

La evaluación microbiológica efectuada a los panes (Tabla II), mostró valores de mohos, levaduras y aerobios mesófilos inferiores a los máximos establecidos por la normativa venezolana (COVENIN, 1988) para este producto, lo que garantiza que los panes obtenidos estaban aptos para su consumo desde el punto de vista sanitario.

En la evaluación sensorial, los panelistas mostraron mayor preferencia (p<0,05) por el producto F-II (20 % de HC) en los atributos analizados (apariencia general, sabor, olor y textura); el producto que gustó menos fue F-III. En la

comparación entre F-II y el pan control, los panelistas mostraron preferencias (p<0,05) por el sabor y olor del pan de coroba y no discriminaron en la apariencia general (p>0,05). Estos aspectos son importantes indicadores al considerar la inclusión de HC hasta una proporción del 20 % del total de harina utilizada en la confección de pan de molde. La elaboración de panes incorporando harinas de otras materias vegetales, como arroz (Reyes *et al.*, 2004) hasta un 30 %, y plátano verde (Pacheco-Delahaye y Testa, 2005) hasta 7 %, también han evidenciado la viabilidad de la sustitución parcial de la harina de trigo en estos productos.

Tabla II. Caracterización microbiológica de los panes.*

Producto	Aerobios mesófilos	Mohos	Levaduras
PC	5 x 10 ³	3 x 10 ²	1 x 10 ²
F-I	6 x 10 ³	4 x 10 ²	2 x 10 ²
F-II	6 x 10 ³	3x 10 ²	1 x 10 ²
F-III	5 x 10 ³	4 x 10 ²	2 x 10 ²

* Valores expresados como UFC/g.

La composición química proximal y el valor de textura de F-II y el PC se presentan en la Tabla III. Se evidenciaron diferencias significativas (p<0,05) en los contenidos de proteína cruda, ceniza y fibra cruda. Estas variaciones son influenciadas por la proporción de harina de coroba incorporada en la fórmula, cuya composición fue diferente en estas sustancias respecto a la harina de trigo. La textura, referida como la presión necesaria para penetrar en la muestra, fue significativamente mayor (p<0,05) en el pan de coroba, lo que lo hace de una consistencia más firme (duro)

que el pan control; esta característica se observó en la evaluación sensorial, donde los panelistas mostraron preferencia por la textura del pan control. Comportamiento similar respecto a este parámetro ha sido reportado en panes donde se sustituyó parcialmente la harina de trigo por harina de arroz (Reyes *et al.*, 2004) y lo asociaron al fenómeno de la retrogradación que experimenta el almidón; la retrogradación depende de la proporción de amilosa y amilopeptina en las harinas utilizadas (Valdés, 2006).

Tabla III. Caracterización físico-química del pan control (PC) y F-II.*

Producto	Humedad (%)	Proteína (%)	Grasa (%)	Cenizas (%)	Fibra** (%)	Carbohidratos (%)***	Textura (gf)
PC	28,85 ^a	9,83 ^a	2,29 ^a	1,10 ^b	0,50 ^b	57,43 ^a	550 ^b
F-II	29,00 ^a	7,25 ^b	2,36 ^a	1,51 ^a	1,12 ^a	58,76 ^a	1022 ^a

* Valores promedios de tres repeticiones. ** Fibra cruda. *** Calculados por diferencia.

- Letras diferentes en los superíndices de una misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

CONCLUSIONES

La harina de mesocarpio de palma coroba es una potencial materia prima para la elaboración de pan de molde, característica que amplía su utilidad como fuente alimentaria. La sustitución de la harina de trigo por un 20 % de harina de coroba originó un pan de apariencia similar al pan de trigo y de mayor preferencia en los atributo sabor y olor. La incorporación de la harina de coroba incrementó el aporte en minerales y fibra, componentes de interés nutricional.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alemán, R., Belén, D.R., Zorrilla, M., Bastardo, L., Álvarez F. y Moreno-Álvarez, M.J. (2002). Características físicoquímicas del mesocarpio de la coroba (*Jessenia polycarpa* Karst). *Grasas y Aceites*. 53 (4), 396-399.

AOAC. (1990). Official Methods of Analysis, 15th Ed., Association Official of Analytical Chemists, Arlington. (Vir).

Belén, D. R. (2000). Obtención de harina a partir del mesocarpio del fruto de la palma coroba. Trabajo de Grado, Ingeniería de Alimentos. Universidad Simón Rodríguez. Canoabo, Venezuela.

Belén, D.R., Álvarez, F.J y Alemán, R. (2001). Caracterización físicoquímica de una harina obtenida del mesocarpio de la palma de coroba (*Jessenia polycarpa* Karst). *Revista Fac. Agron. (LUZ)*. 18 (4), 290-297.

Belén, D.R.; Alemán, R.; Álvarez, F.; Moreno-Álvarez, M.J. 2004. Evaluación de algunas propiedades funcionales y reológicas de harinas de coroba (*Jessenia polycarpa* Karst). *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 21 (2): 161-171.

Belén-Camacho, D. R.; Herrera, S.; Castillo, A.; Moreno-Álvarez, M. J.; García, D.; Medina, C. (2005). Características físicas y químicas del fruto de la coroba: una especie oleífera venezolana. *Grasas y Aceites*. 56(4): 317-323.

Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). (1978 a). Alimentos. Norma N° 902: Método para recuento de microorganismos aerobios. FONDONORMA. Caracas, Venezuela.

Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). (1978 b). Alimentos. Norma N° 1337: Método para determinar hongos y levaduras. FONDONORMA. Caracas, Venezuela.

Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). (1988). Norma N° 902: Método para recuento de microorganismos aerobios. FONDONORMA. Caracas, Venezuela.

Instituto Nacional de Nutrición (INN). (2001). Tabla de composición de alimentos para uso práctico. Ministerio de Salud y Desarrollo Social. Caracas, Venezuela.

Mälkki, Y. (2001). Physical properties of dietary fibers as keys to physiological functions. *Cereal Food World*. 46:196-199.

Pacheco-Delahaye, E.; Testa, G. (2005). Evaluación nutricional, física y sensorial de panes de trigo y plátano verde. *Interciencia*. 30(5): 300-304.

Reyes, M. J.; de Palomo, P.; Brezan, R. (2004). Desarrollo de un producto de panificación apto para el adulto mayor a base de harina de trigo y harina de arroz. *ALAN*. 54(3): 314-321.

Salazar, E. (2001). Harina de yuca, harina del germen desgrasado de maíz, almidón de maíz y harina de pulpa de coroba como posibles aditivos panaderos. I Congreso Latinoamericano de Estudiantes de Ciencia y Tecnología de Alimentos (Memorias). Cartagena de Indias, Colombia.

SAS. (1992). User's guide. Versión 6.0. Statistical Analysis System Institute. USA.

Valdés, S. E. (2006). Hidratos de Carbono. En: Química de los alimentos. Baduí, S (Ed.). 4 ta edición. PEARSON Educación. México. pp. 29-117.

ESTABILIDADE MICROESTRUTURAL E DO TEOR DE CAROTENOÍDES DE PÓS OBTIDOS DA POLPA DE PEQUI (*Caryocar brasiliense Camb.*) LIOFILIZADA

Alves, Cibele Cristina de Oliveira; Resende, Jaime Vilela; Prado, Mônica; Cruvinel, Rafael y Lima, Helena
 UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS
 DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA DOS ALIMENTOS
 Caixa Postal 3037, CEP37200-000, email: jvresende@ufla.br
 LAVRAS/MG - BRASIL

Palavras chaves: liofilização, microestrutura, carotenóides, cristalização.

RESUMO

Pós obtidos a partir da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) liofilizada, elaborados com adição de álcoois (etanol e isopropanol), em concentrações de 0, 5 e 10% e de açúcares (sacarose e frutose), em concentrações de 0, 5 e 10%, foram desenvolvidos neste trabalho. Análises microestruturais, por microscopia fotônica, dos pós de pequi liofilizados foram feitas para visualizar o grau de cristalinidade. Também foram feitas análises dos teores de carotenóides totais por espectrofotometria. Os carotenóides, além de contribuírem no aspecto da coloração, também são um dos principais constituintes do pequi que apresentam alto valor nutritivo. Os resultados mostraram que as combinações de sacarose e etanol foram as que apresentaram: maior formação de estruturas cristalinas, e que há maior preservação dos carotenóides quanto maior for a concentração do álcool adicionado. Tratamentos com frutose e isopropanol produziram pós tipicamente amorfos, com ocorrência do fenômeno de *caking*.

INTRODUÇÃO

O pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) é um fruto típico do Cerrado brasileiro com ampla utilização pelos sertanejos. O seu grande consumo deve-se, principalmente, ao sabor, aroma peculiar e ao alto valor nutricional que o mesmo apresenta (Marques et al., 2001).

De modo geral, a sua floração se dá de Agosto a Novembro, coincidindo com o período das chuvas, com pico em Setembro, já a frutificação ocorre de novembro a fevereiro (Almeida et al., 1998). A sazonalidade limita a comercialização e o acesso da população ao pequi.

A desidratação através da liofilização do pequi seria uma alternativa para conservar e garantir o comércio do fruto em períodos de entressafra. A água do produto submetida ao prévio congelamento passa diretamente do estado sólido para o gasoso. Para que isso ocorra é necessário que a pressão de vapor e a temperatura da camada de gelo sublimável estejam abaixo do ponto triplice da água (King, 1988). Krokida & Philippoulou (2006) avaliaram os efeitos da secagem convencional e da secagem por liofilização no "flavor" de maçãs. Os resultados mostraram que a secagem por liofilização garantiu produtos com qualidade de "flavor" altamente superior àqueles secados por método convencional.

Segundo Ribeiro (2000), o pequi é um fruto rico em carotenóides, no qual foi encontrado o maior teor de vitamina A, sendo este valor quase vinte vezes superior ao da cenoura e pupunha, e duas vezes ao do dendê. Os carotenóides evitam a formação de radicais livres no corpo e previnem tumores e o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Entretanto, são compostos susceptíveis às reações oxidativas, devido ao alto grau de insaturação das ligações. A sua estabilidade varia conforme o processamento e a estocagem, dependendo da temperatura, disponibilidade de oxigênio, exposição à luz, atividade de água, acidez, presença de metais e da própria estrutura (Godoy & Rodríguez-Amaya, 1998). Sendo assim, o emprego de técnicas de desidratação e adição de compostos que garantam a maior estabilidade dos carotenóides é importante para assegurar um produto final de qualidade e de boa aceitação no mercado.

A obtenção de pós comestíveis a partir da polpa do pequi (mesocarpo interno) permite a ampliação do comércio do fruto com a utilização do produto liofilizado em diversos nichos do mercado, como na elaboração de temperos, bebidas, doces,

dentre outros, gerando maior valor agregado ao alimento. Contudo, a liofilização provoca certas mudanças estruturais nos açúcares como o alto grau de amorfismo, prejudicando a vida de prateleira e estabilidade do produto.

O cristal constitui o estado mais estável, possuindo a menor energia livre (Bunn, 1972). O processo de cristalização ocorre em duas etapas: nucleação e desenvolvimento do cristal. O núcleo primeiro se forma e depois cresce, sendo que a força motriz desse processo é a supersaturação (Geankoplis, 1998).

A adição de alguns solventes orgânicos e de pequenos cristais de açúcares, antes do congelamento, auxiliam no processo de cristalização, sendo que os solventes reduzem a solubilidade do açúcar constituinte pela supersaturação do sistema (Almeida & Cal-Vidal, 1997; Sing et al., 1991, Carlos et al., 2005) e, os cristais de açúcares atuam no processo de nucleação heterogênea (Jancic & Groostscholten, 1984). Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivos principais: obtenção de pós-lioofilizados comestíveis a partir da polpa (mesocarpo interno) do pequi; caracterizar os pós obtidos da polpa de pequi liofilizada quanto ao teor de carotenóides e cor; análises dos efeitos da adição de álcoois e açúcares anterior à etapa de congelamento sobre o grau de cristalização dos pós e; analisar a sua microestrutura por técnicas de microscopia fotônica.

MATERIAL E MÉTODOS

Preparo das amostras e tratamentos pré-congelamento

Foram elaborados extratos contendo 30% de polpa (mesocarpo interno) do pequi, provenientes do município de Sete Lagoas (Brasil), adicionados de açúcares (frutose ou sacarose) e de álcoois (etanol ou isopropanol), em concentrações de 0%, 5% e 10% (mL/100mL de extrato), tanto para os açúcares como para os álcoois. Para se completar as proporções dos extratos até volume de 40mL adicionou-se água destilada. Os extratos foram homogeneizados, filtrados e colocados em placas de Petri de vidro com capacidade de 30mL e submetidos a congelamento em ar estático em congelador (ultrafreezer Coldrag) com temperatura de $-60 \pm 2^\circ\text{C}$, para em seguida, conduzidos num liofilizador piloto (Liobras-L101). O tempo médio para a liofilização das amostras foi de 72 horas.

Análise do teor de carotenóides totais

Nos pós obtidos a partir do mesocarpo interno do pequi foram realizadas as análises de carotenóides totais.

O processo de extração baseou-se no procedimento descrito pela AOAC (1984). A leitura foi feita num espectrofotômetro a 450nm.

A concentração de carotenóides (mg/100mL amostra) foi calculada usando a seguinte equação:

$$C(\text{mg}^{100}) = \frac{(A \cdot 100)}{(250 \cdot L \cdot W)} \quad (1)$$

em que:

C = concentração de carotenóides em mg/100mL da amostra original

A = absorbância

L = comprimento da célula em cm

W = quantidade da amostra original (mL), no volume final da diluição (mL)

Microscopia fotônica

A análise por microscopia fotônica dos pós de pequi liofilizados, após diferentes tratamentos, foi feita visualizando-se as amostras em um microscópio (MEIJI- ML2000) acoplado a um sistema de videocaptura. As imagens foram obtidas em triplicata.

Delineamento experimental e análise estatística

O efeito dos tratamentos sobre o teor de carotenóides dos pós de pequi liofilizados, em função das concentrações de açúcares e de álcool, foi avaliado por meio da análise de regressão e do método de superfícies de resposta, para os quais foi utilizado o software Statística versão 7.0 (Statsoft).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise do teor de carotenóide

Na Figura 1 são mostradas superfícies de resposta obtidas após ajuste por regressão dos resultados do teor de carotenóides totais dos pós obtidos da polpa de pequi liofilizada em função da concentração de sacarose e de álcoois.

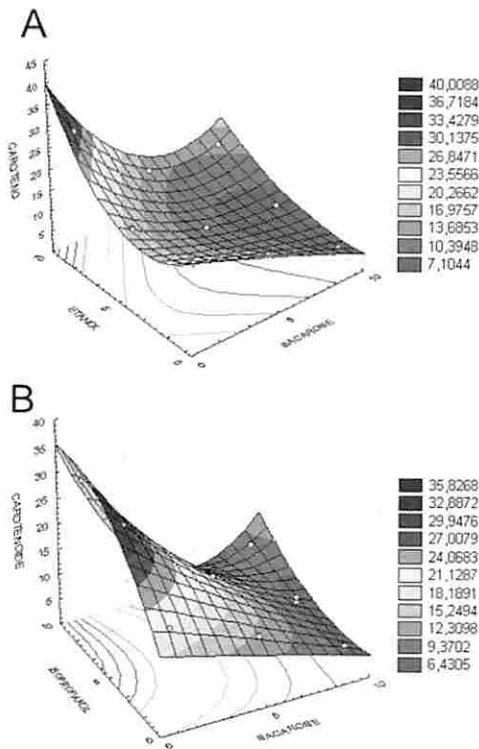


Figura 1. Superfícies de resposta para os teores de carotenóides dos pós obtidos da polpa de pequi liofilizada em função da concentração de sacarose e da concentração de A) etanol e B) isopropanol.

Na Figura 2 são mostradas superfícies de resposta obtidas após ajuste por regressão dos resultados do teor de carotenóides totais dos pós obtidos da polpa de pequi liofilizada em função da concentração de frutose e de álcoois.

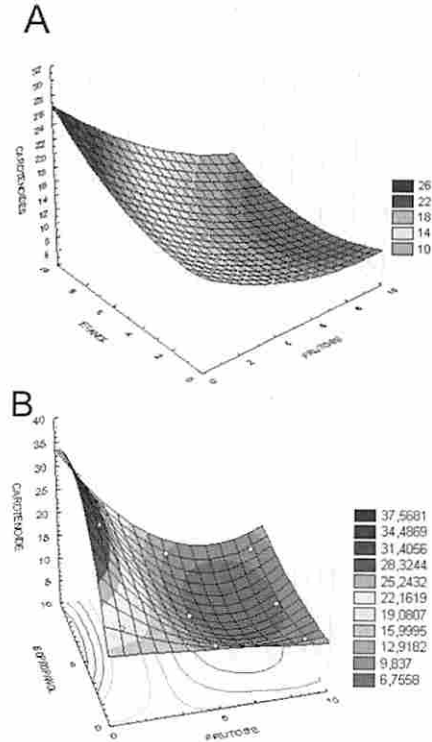


Figura 2. Superfícies de resposta para os teores de carotenóides dos pós obtidos da polpa de pequi liofilizada em função da concentração de frutose e da concentração de A) etanol e B) isopropanol.

Todos os tratamentos obedeceram à mesma tendência para os gráficos de superfície de resposta. Os fatores considerados no planejamento experimental influenciaram significativamente o teor de carotenóides dos pós obtidos da polpa de pequi liofilizada.

Observa-se que os maiores valores de teor de carotenóides foram encontrados entre os tratamentos constituídos apenas de álcoois, sem adição de açúcar, principalmente para o tratamento com isopropanol. Nesses tratamentos verifica-se que a concentração do álcool interferiu na preservação dos carotenóides, resultados que variam proporcionalmente com a concentração do solvente. Os resultados indicaram que o álcool pode estar atuando como solvente, auxiliando na extração dos carotenóides. Por isso, quanto maior a concentração do álcool, maior será a sua interação com o carotenóide. Além disso, os álcoois influenciam a estabilidade do pó obtido pelo processo de liofilização, evitando perdas provenientes do colapso estrutural. Assim, os resultados demonstram o efeito protetor dos álcoois na elaboração dos extratos da polpa de pequi, antes do processo de liofilização.

Um comportamento diferente é observado nos tratamentos contendo açúcares. O aumento das concentrações do açúcar nos pós de pequi liofilizado reduz os teores de carotenóides totais. Uma possível justificativa seria a de que o açúcar, além de estar contribuindo para a formação de estruturas amorfas no processo de liofilização, o que gera instabilidade no produto e o torna mais vulnerável a reações degradativas; este poderia estar interagindo ou competindo quimicamente com demais componentes do sistema influenciando o processo de extração de carotenóides e interferindo nas leituras do espectrofotômetro.

Microscopia fotônica

A Figura 3 mostra fotomicrografias obtidas por microscópio fotônico dos pós obtidos da polpa de pequi liofilizada submetidos a pré-tratamentos com sacarose, em concentrações de 5% e 10%, adicionadas de álcool e tratamentos com frutose, em concentrações de 5% e 10% também adicionados de álcoois e o tratamento sem adição de açúcar.

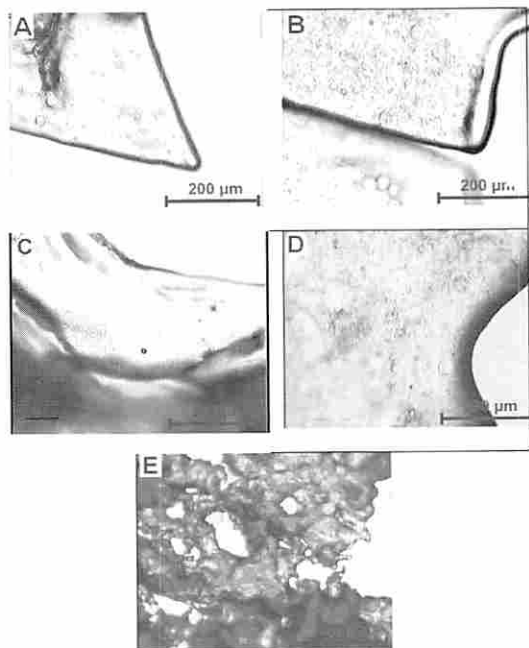


Figura 3. Fotomicrografias, em microscópio fotônico, (dos tratamentos com: A) sacarose 5% e B) sacarose 10%, C) frutose 5% e D) frutose 10% e de E) açúcar 0%, dos pós obtidos da polpa de pequi liofilizada, adicionados de álcoois

Os tratamentos adicionados de sacarose apresentaram estruturas tipicamente cristalinas, com formas geométricas bem definidas. Contudo, estruturas amorfas podem ser visualizadas em sistemas constituídos de frutose e em sistemas com ausência de açúcares. Estas estruturas são caracterizadas por um estado desordenado em que não há repetição de formas geométricas e presença de faces planas bem estabelecidas. Estruturas amorfas são comuns em produtos liofilizados.

Nas demais estruturas, observam-se um maior grau de organização da microestrutura, principalmente quando os sistemas constituídos de sacarose são adicionados de etanol.

O estado cristalino caracteriza-se por estruturas tridimensionais ordenadas de moléculas, na qual há periodicidade e simetria. Tais estruturas foram visíveis, por meio da microscopia fotônica, nos tratamentos constituídos de sacarose.

A cristalização, nos sistemas constituídos de sacarose, foi mais pronunciada em maiores concentrações do açúcar e, principalmente, na presença de álcoois. A sacarose, neste caso, estaria atuando como núcleos no processo de cristalização. Os álcoois atuam como meio de indução para a cristalização dos açúcares, uma vez que promovem a supersaturação do sistema. Contudo, a velocidade do crescimento do cristal e o processo de cristalização dependem também das concentrações dos componentes envolvidos. O fenômeno é observado quando se usa a mesma concentração de álcool e a concentração do açúcar é aumentada ou vice-versa.

A adição de álcool nos pós obtidos da polpa de pequi liofilizada faz com que as moléculas de água e álcool tenham maior interação, promovida por intermédio das ligações de hidrogênio. Com isso, a interação da água com a sacarose, que pode ser tanto dipolo-dipolo como ligação de hidrogênio, fica enfraquecida, pois ocorre um tipo de "competição", devido ao "fortalecimento" das interações água-etanol em relação à água e ao açúcar, o que diminui, parcialmente, a solubilidade desse carboidrato, facilitando a sua cristalização.

CONCLUSÕES

A miscibilidade dos álcoois auxilia na retenção de carotenóides dos pós obtidos da polpa de pequi liofilizada e a presença do açúcar interfere negativamente neste processo.

Os tratamentos com formação de estruturas cristalinas foram aqueles constituídos de sacarose. A presença destas estruturas foi mais pronunciada em maiores concentrações do açúcar e, principalmente, na presença de álcoois.

Os tratamentos constituídos de frutose, com ou sem adição de álcoois e os tratamentos sem adição de açúcares, com presença ou não de álcoois, apresentaram pós liofilizados tipicamente amorfos.

Dentre os tratamentos pesquisados, o sistema constituído de sacarose 5% adicionado de etanol 10% é o indicado para produzir pós liofilizados obtidos da polpa de pequi com maior estabilidade durante o armazenamento. Isso se deve ao fato de apresentar estruturas tipicamente cristalinas (sem formação de pontes líquidas – caking) e, ainda, por apresentar uma retenção razoável de carotenóides.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pelo auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis**. 14 ed. Washington, 1984
- Almeida, L. e Cal-Vidal, J. . Fruit sugar crystallisation during freezing to reduce the hygroscopicity of freeze-dried products in powder forms. In: Proceedings of the 7th International Congress on Engineering and Food, 1997, v. I. p. 9-12
- Almeida, S. P; Proença, C.E.B; Sano, S.M e Ribeiro, J. F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. 464p
- Bunn, C. W. **Cristais: seu papel na natureza e na ciência**. 3ed. Tradução por William Gerson Rolim de Camargo. São Paulo: Ed. Nacional/USP. 293p. Tradução de: Crystals: Their role in nature and in science, 1972.
- Carlos, L. A.; Resende, J.V. e Cal-Vidal, J. Redução da higroscopicidade de pós liofilizados pela indução da cristalização em soluções-modelo de açúcares constituintes de frutas. **Brazil Journal Food Technology**, v.8, n.2, p. 163-173, abr./jun. 2005.
- Geankoplis, C. J. **Procesos de transporte y operaciones unitarias**. 3 ed. México: Continental, 1998. 1008p
- Godoy, H.T. e Rodríguez-Amaya, D.B. Carotenoid composition of Brazilian nectarine (*Prunus persica*). **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v.57, n.1, p.73-79, 1998. Disponível em: <<http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/>>. Acesso em: 17 jul. 2006.
- Jancic, S. J. e Grootsholten, P. A. M. Nucleation: mechanisms and sources of nuclei in industrial crystallizers. In: **Industrial crystallization**. Delft: Delft University, 1984. Cap. 2, p.15-37.
- King, C. J. Spray drying of food liquids and volatiles retention. In Bruin (Ed.), Preconcentration and drying of food materials (pp. 147–162). Amsterdam: Elsevier., 1988.
- Krokida, M. K.; Philippopoulos, C. Volatility of apples during air and freeze drying. **Journal of Food Engineering**, v. 73 p. 135–141, 2006.
- Marques, M. C. S. ; Ceardoso, M. G. ; Souza, P. E. ; Leite, E. A. G. e Azevedo, S. M. . Estudo biológico dos extratos etanólicos e metanólicos de pequi. In: Congresso brasileiro de fitopatologia, XI Congresso latino-americano de fitopatologia, 2001, São Pedro. **Fitopatologia Brasileira**, 2001. v. 26. p. 332-332.
- Sing, R.K., Shah, B.B., Nielsen, S.S. e Chambers, J.V. á-lactose monohydrate from ultrafiltered whey permeate in one step crystallization using ethanol-water mixtures. **Journal of Food Science**, v. 6, n. 3, p. 777-781, 1991
- Statística. **Statística 7.0**, EUA Software. StaSoft, Tucksas, 2005.

SAZONADOR A BASE DE CABEZAS DE CAMARÓN (*Penaeus SP*) DE CULTIVO

Andrade, Ricardo David¹, Chávez, Milena² y Naar, Vanesa²

1- Universidad de Córdoba, Grupo de Investigaciones en procesos agroindustriales, Facultad de Ciencias Agrícolas, Programa de Ingeniería de alimentos. Email: randrade@sinu.unicordoba.edu.co
 2- Universidad de sucre, Facultad de Ingeniería, Programa de Ingeniería Agroindustrial.

Palabras clave: harina de camarón, subproductos, cocción, secado

RESUMEN

Este trabajo consistió en elaborar un sazonador a base de cabezas de camarón (*penaeus sp*) de cultivo mediante un proceso agroindustrial a pequeña escala, para darle aprovechamiento a este subproducto que representa aproximadamente entre el 43-45% en peso del camarón. El estudio se dividió en dos etapas, una consistía en la obtención de harina de cabezas de camarón y otra en la evaluación sensorial de tres formulaciones con 10, 20 y 30 % de harina de cabezas de camarón. Para la obtención de harina de cabezas de camarón se realizaron ensayos con dos temperaturas (85 y 95°C) y dos tiempos (10 y 20 minutos) de cocción y con dos temperaturas (65 y 75°C) y dos tiempos (5 y 7 horas) de secado. El proceso se evaluó determinado el contenido de grasa, proteína y humedad de la harina y la calidad microbiológica de la misma. Se encontró que no se sobrepasaron los parámetros microbiológicos en ninguno de los ensayos y que el tratamiento mas favorable para mantener el mayor contenido de grasa y de proteína y alcanzar un nivel bajo de humedad fue una cocción a 95°C, por 10 minutos y un secado a 75°C por 5 horas. La formulación, seleccionada por los jueces, es la que incluye un 30 % de harina de cabezas de camarón.

INTRODUCCION

El camarón (*Penaeus Sp*), es el nombre genérico de crustáceos decápodos nadadores que habitan en agua dulce y en mayor diversidad en el medio marino, el cuerpo está protegido por un exoesqueleto que debe mudar a medida que crece(Welder, 1998). Los camarones del género *Penaeus* presentan un enorme potencial de cultivo, motivo por el cual han recibido la mayor atención en cuanto a experiencias de cultivo e investigación científica, siendo por ello los principales crustáceos cultivados en el mundo. Debido al desarrollo alcanzado, en la actualidad son más de 25 las especies de camarones del género *Penaeus* las cultivadas (Ramos, et al., 2001). El valor nutricional de la proteína de los subproductos del camarón es similar al de la caseína, y no se han detectado efectos tóxicos con posterioridad a su utilización. Estudios adelantados a cerca del aprovechamiento de los subproductos de los crustáceos han demostrado que sirve para la elaboración de fibra y esponjas, plásticos que cubren frutos, hortalizas, carnes, pescados y quesos (Tacon, 1989).

En Colombia el procesamiento de camarón en el año 2001 generó entre 5160 a 5400 toneladas de cabezas de desecho, con tendencia a incrementarse en un 3,81%. A nivel artesanal, en Colombia se utilizan los subproductos en la elaboración de harina para consumo domestico, más a manera de experimentación que como una posibilidad comercial (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural).

Las industrias de elaboración de alimentos y servicios conexos están proliferando rápidamente en todo el mundo, tanto en los países desarrollados, como en desarrollo. Las empresas del sector alimentario que deseen aprovechar la expansión del sector de los sazonadores, tienen que crear productos equivalentes para poder competir, buscando nuevos sabores e incorporar comida de naturaleza étnica en la oferta de los fabricantes de alimentos y restaurantes. En este proceso los sazonadores son el ingrediente primordial (<http://www.pascualinet.com.ar/sabprizantes.htm>).

MATERIALES Y METODOS

Esta investigación se llevó a cabo en el Instituto de Ciencia y Tecnología Alimentaria (INTAL, Medellín), en la Empresa Tecnas, S.A. (Medellín), SENA-Centro Agropecuario La Salada (Caldas, Antioquia) y en la Universidad Nacional de Colombia (Medellín).

Metodología

Este trabajo se dividió en dos etapas:

1. **Elaboración de la harina de cabezas de camarón de cultivo:** se llevó a cabo de acuerdo al proceso tecnológico que se presenta en la figura 1.

A las cabezas de camarón, se le realizaron análisis microbiológicos (Corrie, V., 2002) y análisis bromatológicos (Bernal, I.1993).

Se utilizó un diseño general factorial 2k, considerando 4 factores (k) cada uno con dos niveles: temperatura de cocción de las cabezas de camarón (85 y 95°C), tiempo de cocción (10 y 20 minutos), temperatura de secado (65 y 75°C) y tiempos de secado (5 y 7 horas). Las variables de respuesta fueron: propiedades microbiológicas de la harina (NMP de Coliformes totales y fécales, y UFC de mesófilos aerobios en la harina) y propiedades bromatológicas de la harina (% de proteína, % de grasa y % de humedad).

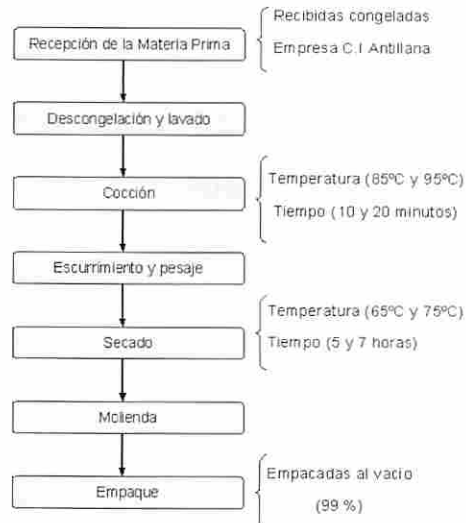


Figura 1. Proceso tecnológico elaboración de harina de cabezas de camarón de cultivo

2. **Elaboración del sazonador a base de harina de cabezas de camarón:** para la elaboración del sazonador, figura 2, se evaluaron tres formulaciones (10%, 20% y 30% de harina de cabezas de camarón). Los condimentos y especias deshidratadas fueron considerados de acuerdo a criterios de compatibilidad con productos alimenticios de camarón y sus proporciones se estableció teniendo en cuenta aspectos como el color, sabor y olor de cada una de las especias.

Análisis sensorial: el sazonador obtenido fue sometido a análisis sensorial, el cual se consideró en esta etapa como el factor de respuesta más importante. Las pruebas sensoriales llevadas a cabo en este estudio están basadas en la Norma

Técnica Colombiana NTC 3929 y 3930, 1996- 08- 21; realizando prueba afectiva y prueba de ordenación o Ranking, para medir los atributos de color, olor y sabor, y la preferencia de compra.



Figura 2. Proceso tecnológico para la obtención del sazónador

RESULTADOS Y DISCUSION

Los análisis microbiológicos realizados a las cabezas de camarón, mostraron que los parámetros evaluados se encuentran dentro de los rangos microbiológicos permitidos, lo cual se debe al tratamiento que se le realiza al camarón entero con bisulfito sódico y a la congelación que son sometidas las cabezas.

El análisis estadístico realizado para el contenido de humedad muestra que cuatro factores tuvieron incidencias significativas sobre esta variable (figura 3), en orden de incidencia se encuentran: temperatura de secado, tiempo de secado, temperatura - tiempo de cocción y temperatura - tiempo de secado. Para el contenido de proteína se encontró que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos y en el contenido de grasa, figura 4, en orden de incidencia están: el factor tiempo de cocción, las interacciones: temperatura de cocción-temperatura de secado, temperatura de secado-tiempo de secado, el factor temperatura de secado, la interacción tiempo de cocción-temperatura de secado, y la temperatura de cocción.

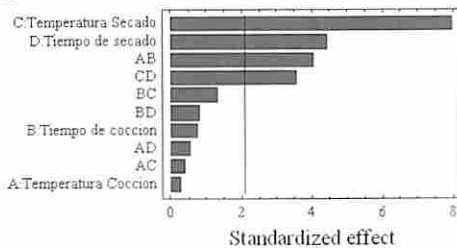


Figura 3. Diagrama de Pareto para el porcentaje de humedad

El mejor tratamiento consistió en una cocción a 95°C por 10 minutos y secado a 75°C por 5 horas, tabla 1. Con estos niveles de cocción y secado se logra obtener una humedad que no sobrepasa el 10%, además el contenido de proteína y de grasa es significativo, lo cual permitiría conservar el sabor característico del camarón.

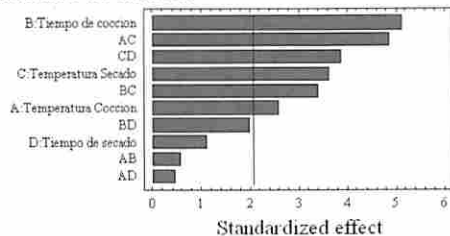


Figura 4. Diagrama de Pareto para el porcentaje de grasa

De acuerdo con la prueba afectiva, de las tres formulaciones evaluadas, la que mayores porcentajes obtuvo fue la

formulación (30% de harina de cabeza de camarón). La mayor parte de los jueces consideraron que en la formulación uno y dos el sabor a camarón estaba disminuido y potenciado en sal y especias, lo cual enmascara el sabor característico a camarón del sazónador, a diferencia de la formulación tres, en la cual las especias potencian el sabor a camarón y el nivel de sal es el adecuado.

Tabla 1. Caracterización de la harina de cabezas de camarón seleccionada.

Característica	Valor
Grasa (%)	6.570
Proteína (%)	50.265
Humedad (%)	3.940
Cenizas (%)	19.58
Granulometría(Diámetro de partícula, mm)	0.25 – 0.60
Aerobios mesófilos (UFC / g)	95
Coliformes totales (NMP)	<3
Coliformes fecales (NMP)	<3

Después de realizar la cotejación, descodificación y sumas ordinales de los valores, se realizó el test de Friedman, donde se obtuvo que no hay diferencias significativas entre las tres formulaciones para los atributos evaluados, pero se pudo observar que la formulación tres fue la que recibió mayores calificaciones. En la tabla 2, se presentan algunas características del sazónador para camarones elaborado con los ingredientes de la formulación tres.

Tabla 2. Análisis de la formulación seleccionada del sazónador

Característica	Valor
Humedad (%)	5.6
Proteínas (%)	17.4
Grasa (%)	3.9
Carbohidratos (%)	50.8
Cenizas (%)	22.3
Recuento de aerobios mesófilos(UFC/g)	200
Coliformes fecales (NMP), bacterias/g	<3
Recuento de <i>Bacillus cereus</i> (UFC/g)	500
Recuento Mohos y levaduras (UFC/g)	700

CONCLUSIONES

La harina de cabezas de camarón se puede obtener mediante el proceso tecnológico, con las condiciones de cocción a 95°C por 10 minutos y un secado a 75°C por 5 horas. De las tres formulaciones evaluadas sensorialmente la que presentó mayor aceptación entre los jueces, fue la formulación tres, que contenía un 30% de harina de cabezas de camarón, el cual presentó características bromatológicas y microbiológicas adecuadas de acuerdo a las normas. Además las formulaciones con inclusiones de 10% y 20% de harina, no fueron desagradables para los panelistas.

REFERENCIAS

Bernal, I. Análisis de los Alimentos. Santa Fe de Bogotá: Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Colección Julio Carrizosa Valenzuela. N° 2. 1 – 14, 1993.
 Corrie, V., Métodos de análisis microbiológicos de alimentos. Madrid, España: Ediciones Díaz De Santos, S.A., 65, 69, 2002.
 Ramos, R.; Miranda, I. y Molina C. Consumo y digestibilidad aparente de tres ingredientes marinos locales incorporados en dietas prácticas para el camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, Estudios Oceanológicos 20: 43-44, 2001
 Tacon, A. Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados. Manual de capacitación. Programa cooperativo gubernamental. FAO. Brasil.1989. <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab492s/AB492s00.htm>
 Welder, E. Introducción en la Acuicultura con énfasis en los Neotrópicos. Santa Marta: Litoflash, 41, 1998.
 Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Observatorio de Competitividad Agrociudades: La Cadena de Camarón de Cultivo en Colombia.2002. <http://www.agrocadenas.gov.co/camaron.cultivo>.
 Los saborizantes (2004). En<http://www.pascualmet.com.ar/sabprizantes.htm>.

EFFECTO ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis* L.) Y SUS COMPUESTOS ÁCIDO ROSMARÍNICO, CARNOSOL Y ÁCIDO CARNÓSIKO EN UNA PASTA CÁRNICA

Hernández-Hernández, Elvia^{(a)*}; Ponce-Alquicira, Edith^(a); Jaramillo-Flores, María Eugenia^(b) y Guerrero-Legarreta, Isabel^(a)

^(a)DPTO. DE BIOTECNOLOGÍA, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA – IZTAPALAPA

^(b)DPTO. DE GRADUADOS E INVESTIGACIÓN DE ALIMENTOS, ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL. Av. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina, Apartado Postal 55-535, C. P. 09340. Correo electrónico: elviahdez2@prodigy.net.mx MÉXICO D. F.

Palabras clave: oxidación, ácidos grasos, oximioglobina, romero, ácidos carnósicos y rosmarínico, carnosol

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto antioxidante sobre ácidos grasos y oximioglobina del extracto de romero (*Rosmarinus officinalis* L.), de los ácidos carnósicos y rosmarínico y del carnosol aislados del extracto y estándares de los mismos. El extracto y los compuestos se agregaron a pastas de carne cruda de cerdo almacenadas durante 72 h en refrigeración. La oxidación se midió cada 24 h mediante cambios en TBARS y en tonalidad de las pastas. Al finalizar el almacenamiento el extracto de romero presentó mayor actividad antioxidante en ácidos grasos, siguiéndole el ácido carnósico y el carnosol provenientes de ambas fuentes; el ácido rosmarínico tuvo el menor poder antioxidante de todos los tratamientos. A las 24 h se presentó una importante oxidación de la oximioglobina en las pastas con ácido rosmarínico proveniente del romero y el estándar, posteriormente hubo disminución en la tonalidad de las muestras; a las 72 h las pastas con extracto de romero, ácido carnósico aislado del extracto de romero y el carnosol estándar presentaron bajos niveles de oxidación. La composición del extracto y la estructura de los compuestos con actividad antioxidante influyen en la extensión de la oxidación de ácidos grasos y del hemopigmento.

INTRODUCCIÓN

Una emulsión consiste de dos fases líquidas inmiscibles, una de las cuales se encuentra dispersa en la otra en forma de una suspensión coloidal. En las pastas cárnicas los glóbulos de grasa constituyen la fase dispersa mientras que la fase continua es una matriz acuosa que contiene sales, proteínas solubles e insolubles y partículas de fibras musculares y de tejido conectivo (Gordon y Barbut, 1992).

Por otra parte, entre las especies de carne roja, la de cerdo contiene mayor cantidad de ácidos grasos insaturados (0.71 g/100g), siendo el ácido oleico (2.78 g/100 g) el que se encuentra en mayor concentración. La autooxidación de ácidos grasos es una de las principales causas de deterioro en la carne de cerdo fresca. Es una secuencia compleja de cambios químicos resultado de la reacción espontánea de especies reactivas de oxígeno con los lípidos, puede retrasarse de varias formas una de ellas es la utilización de antioxidantes (Nawar, 1993).

Con respecto a la aceptación por parte del consumidor, el color la determina en mayor medida; en las carnes rojas este se debe principalmente al hemopigmento mioglobina. Cuando la carne fresca se expone al aire, los gases se disuelven en los fluidos fisiológicos de la carne y el oxígeno se une a la mioglobina para formar un color rojo brillante que se conoce como oximioglobina. El almacenamiento prolongado de la carne expuesta al aire o bajo condiciones de baja concentración de oxígeno producen color café conocido como metamioglobina, en el cual el hierro del grupo hemo es convertido al estado férrico y la proteína esta menos oxigenada. En un momento determinado, el color de la carne depende de la proporción relativa y de la distribución de los tres pigmentos musculares: mioglobina de color rojo púrpura, oximioglobina roja y metamioglobina café (Alarcón, 1992).

La utilización de antioxidantes naturales ha aumentado debido

a posibles efectos carcinogénicos de los antioxidantes sintéticos. Los primeros son preferidos por los consumidores debido a que se consideran como seguros. Las hierbas y especias se utilizan no sólo como ingredientes tradicionales de los alimentos, también por sus características antioxidantes. Una cantidad considerable de extractos de plantas (romero, salvia europea, orégano, clavo) son tan efectivos como los antioxidantes sintéticos BHA y BHT (Madhavi y col., 1996). La propiedad antioxidante de los extractos se debe principalmente a la presencia de compuestos fenólicos que por sus propiedades de óxido-reducción, juegan un papel importante en la neutralización de radicales libres, secuestradores del oxígeno singulete o descomposición de peróxidos (Fiorucci y col., 2007).

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto antioxidante del extracto etanólico de romero (*Rosmarinus officinalis* L.), de los compuestos con actividad antioxidante aislados del extracto y estándares de los mismos., en pastas de carne cruda de cerdo almacenadas en refrigeración.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales.

El extracto de romero se obtuvo con etanol por maceración durante 10 días a temperatura ambiente. La pasta cárnica se preparó con carne cruda de cerdo, lardo, agua, cloruro de sodio, fosfato de potasio y un emulsificante comercial.

Métodos.

El extracto y los compuestos con actividad antioxidante se incorporaron a las pastas en forma separada en concentración de 0.02% p/p; el almacenamiento fue durante 72 horas a 4°C. La separación de los ácidos rosmarínico y carnósico y del carnosol (mg/g extracto) se realizó por HPLC (Areias y col., 2000), la oxidación de ácidos grasos se midió por TBARS (mg de malonaldehído/kg pasta) (Rossell, 1994), la oxidación de oximioglobina se determinó utilizando un colorímetro, expresándola como diferencia en tonalidad. Las determinaciones se realizaron cada 24 horas.

RESULTADOS

Los tres compuestos aislados presentaron actividad antioxidante (Figura 1) debido a que son fenólicos y por lo tanto, inactivan radicales libres y previenen la descomposición de los hidroperóxidos (Masuda y col., 2001; Seydim y col., 2006; Fiorucci y col., 2007), como consecuencia hubo menor formación de malonaldehído. Al final del almacenamiento el ácido rosmarínico tanto estándar como el aislado del extracto de romero tuvieron menor actividad antioxidante (TBARS=0.2905 y 0.2939, respectivamente), siguiéndole en orden ascendente el carnosol (TBARS=0.1726 y 0.1784 romero y estándar respectivamente), ácido carnósico (TBARS=0.1656 y 0.187 romero y estándar respectivamente) y finalmente el extracto de romero que tuvo el mayor poder antioxidante (TBARS=0.0805), posiblemente se debió a que la efectividad de los antioxidantes en retardar la oxidación de lípidos en una pasta cárnica, se incrementa conforme su polaridad disminuye a causa de que pueden localizarse en la interfase aceite-agua, que es el sitio donde los hidroperóxidos

y los prooxidantes que se encuentran en la fase acuosa entran en contacto, mientras que los antioxidantes hidrofílicos permanecen en solución en la fase acuosa (McClements y Decker, 2000). De acuerdo con la polaridad de los ácidos rosmarínico y carnósico y del carnosol, los últimos son de menor polaridad. Con respecto al extracto de romero, Vági y col. (2005) reportaron que es más importante la antioxidación de los extractos que la de los compuestos individuales, debido a que existen numerosos compuestos activos no identificados que tienen un papel importante en la actividad antioxidante; Del Baño y col. (2003) reportaron que la presencia de flavonas en extractos de romero que contenían ácido carnósico incrementaron la actividad antioxidante del último posiblemente debido a sinergismo entre ambos. Asimismo, Hernández-Ángel y Prieto-González (1999) observaron que los fenoles funcionan mejor en mezclas porque los muy reactivos se oxidan fácilmente, mientras que otros menos activos regeneran a los primeros. Tomando en consideración la actividad antioxidante de los compuestos aislados, se pudo observar que ya dentro del extracto todos participaron; sin embargo, el carnosol y el ácido carnósico son los que contribuyen en mayor medida (Del Baño y col., 2003; Seydim y col., 2006).

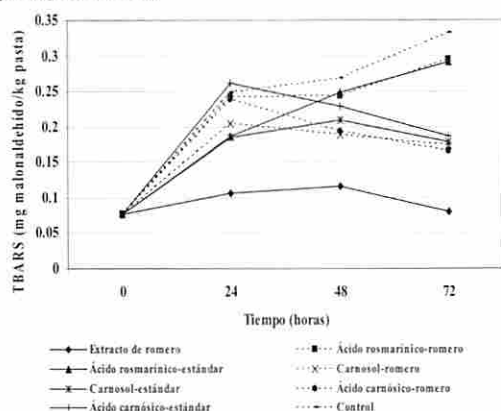


Figura 1. Oxidación de ácidos grasos en pastas almacenadas a 4°C.

Masuda y col. (2002) observaron que el ácido carnósico es inestable, oxidándose para formar la correspondiente quinona, ésta no presenta actividad antioxidante pero es inestable en solución, convirtiéndose por un lado a carnosol y, por el otro, mediante reacciones de óxido-reducción a ácido carnósico y rosmanol. Cuando el disolvente utilizado es agua, metanol o etanol se forma mayor concentración de carnosol y cantidades menores de ácido carnósico y rosmanol. La potente antioxidación del extracto de romero en etanol posiblemente también se debió a estas reacciones.

Con relación a la oxidación de la oximioglobina se pudo observar que en las primeras 24 h de almacenamiento en las pastas con ácido rosmarínico tanto aislado del extracto de romero como el estándar se presentó incremento en la tonalidad (Figura 2) (desde 0 a las 0 horas a 2.475 y 3.739, respectivamente). La mayor oxidación de la oximioglobina posiblemente se debió a que los fenoles al oxidarse forman quinonas, las cuales reaccionan con la lisina, cisteína, metionina y triptófano de la mioglobina provocando una polimerización de la misma exponiendo al grupo hemo al medio ambiente; a mayor número de grupos hidroxilo se incrementa la reactividad del compuesto fenólico (Kroll y Rawel, 2001), el ácido rosmarínico contiene 4 grupos en su molécula, mientras que el ácido carnósico y el carnosol presentan 2. El descenso hacia las 48 (-0.55 y 0.814 romero y estándar, respectivamente) y 72 h (-0.047 y -0.073 romero y estándar, respectivamente) posiblemente se debió a la actividad de la reductasa de la metamioglobina, que es una enzima que reduce la metamioglobina a oximioglobina (Zhu y Brewer, 1998).

Con el extracto de romero, ácido carnósico aislado del extracto de romero y el carnosol estándar se presentaron bajos niveles de oxidación del pigmento. Yin y Cheng (2003) detectaron dos

compuestos con actividad antioxidante en el ajo que estabilizaron al pigmento directamente protegiéndolo de la oxidación, ya sea incidiendo en el ciclo redox del hierro o a través de la estructura de la globina.

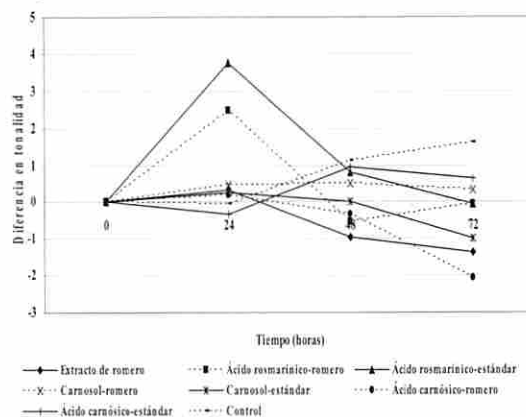


Figura 2. Oxidación de oximioglobina en pastas almacenadas a 4°C.

CONCLUSIONES

En una pasta cárnica, el ácido carnósico y carnosol tienen mayor actividad antioxidante que el ácido rosmarínico. La actividad antioxidante del extracto de romero en ácidos grasos y oximioglobina se debe a la acción combinada de los compuestos que forman parte de él.

AGRADECIMIENTO

A CONACYT por beca de grado (Hernández Hernández Elvia)

BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS

- Alarcón, A. D. 1992. Constitución química y bioquímica del músculo y calidad de la carne. Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Zootecnia, División de Posgrado Analítico.
- Araías, F., Valentao, P., Andrade, P. B., Ferreres, F. y Seabra, R. M. 2000. Flavonoids and phenolic acids of sage: influence of some agricultural factors. *J. Agric. Food Chem.* 48(12): 6081-6084.
- Del Baño, M. J., Lorente, J., Castillo, J., Benavente-García, O., Del Río, J. A., Ortuño, A., Quirín, D. W. y Gerard, D. 2003. Phenolic diterpenes, flavonoids, and rosmarinic acid distribution during the development of leaves, flowers, stems, and roots of *Rosmarinus officinalis*: Antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 51(15): 4247-4253.
- Fiorucci, S., Golebiowski, J., Cabrol-Bass, D. y Antonczak, S. 2007. DFT study of quercetin activated forms involved in antiradical, antioxidant, and prooxidant biological processes. *J. Agric. Food Chem.* 55(3): 903-911.
- Gordon, A. y Barbut, S. 1992. Mechanisms of meat batter stabilization: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 32(4): 299-332.
- Hernández-Ángel, M. y Prieto-González, E. A. 1999. Plantas que contienen polifenoles. Antioxidantes dentro del estilo de vida. *Rev. Cubana Invest. Bioméd.* 18(1): 12-14.
- Kroll, J. y Rawel, H. M. 2001. Reactions of plant phenols with myoglobin: influence of chemical structure of the phenolic compounds. *J. Food Sci.* 66(1): 48-58.
- Madhavi, D. L., Singhal, R. S. y Kulkarni, P. R. 1996. Technological aspects of food antioxidants. En: *Food Antioxidants. Technological, Toxicological and Health Perspectives*, Marcel Dekker. Nueva York, pp. 159-266.
- Masuda, T., Inaba, Y., Maekawa, T., Takeda, Y., Tamura, H. y Yamaguchi, H. 2002. Recovery mechanism of the antioxidant activity from carnosic acid quinone, an oxidized sage and rosemary antioxidant. *J. Agric. Food Chem.* 50(21): 5863-5869.
- Masuda, T., Inaba, Y. y Takeda, Y. 2001. Antioxidant mechanism of carnosic acid: structural identification of two oxidation products. *J. Agric. Food Chem.* 49(11): 5560-5565.
- McClements, D. J. y Decker, E. A. 2000. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. *J. Food Sci.* 65(8): 1270-1282.
- Nawar, W. W. 1993. Lípidos. En: *Química de los Alimentos*. Fennema, O. R. (Ed.) Editorial Acrobía, S. A., Zaragoza, España, pp. 157-274.
- Rossell, J. B. 1994. Measurement of rancidity. En: *Rancidity in Foods*. Allen, J. C. y Hamilton, R. J. (Eds.). Chapman and Hall, Londres, Gran Bretaña, pp. 22-53.
- Seydim, A. C., Guzel-Seydim, Z. B., Acton, J. C. y Dawson, P. L. 2006. Effects of rosemary extract and sodium lactate on quality of vacuum-packaged ground ostrich meat. *J. Food Sci.* 71(1): 71-76.
- Vági, E., Rapavi, E., Hadolin, M., Vászahelyi-Perédi, K., Balázs, A., Blázovics, A. y Simándi, B. 2005. Phenolic and triterpenoid antioxidants from *Origanum majorana* L. herb and extracts obtained with different solvents. *J. Agric. Food Chem.* 53(1): 17-21.
- Yin, M. C. y Cheng, W. S. 2003. Antioxidant and antimicrobial effects of four garlic-derived organosulfur compounds in ground beef. *Meat Science*, 63: 23-28.
- Zhu, L. G. y Brewer, M. S. 1998. Metmyoglobin reducing capacity of fresh normal, PSE and DFD pork during retail display. *J. Food Sci.* 63(3): 390-393.

EFFECTO DE LA DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA DE CHAYOTE (*Sechium edule*), SOBRE LA ACTIVIDAD PEROXIDASA Y POLIFENOLOXIDASA.

²Zambrano-Zaragoza, María de la Luz.*, ¹Jiménez-Vieyra, María Elena, ¹Rosas-Ortiz, L., y ¹Vázquez-Camarillo, Grecia.

¹Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas, Instituto Politécnico Nacional. Unidad Profesional Adolfo López Mateos. Edificio 7, Zacatenco, C.P. 07738, México, e-mail: mejimenezv@gmail.com

²Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Departamento de Ingeniería y Tecnología, Cátedra de Ingeniería Alimentaria. Av. Iro. de Mayo s/n, Col. Atlanta, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, C.P. 54740. e-mail luz.zambrano@correo.unam.mx

Palabras clave: Procesamiento de alimentos, deshidratación osmótica, metodología Taguchi, enzimas

RESUMEN

Durante el proceso de deshidratación osmótica es posible emplear un recubrimiento que contribuya a controlar la difusión del agente osmótico y darle mayor estabilidad al producto. El objetivo de este trabajo fue evaluar la influencia del pretratamiento, la concentración de la solución osmótica y la temperatura sobre la actividad de polifenoloxidasas y peroxidadas de chayote deshidratado osmóticamente. Se utilizó un diseño ortogonal $L_{8}2^3$, tomando en consideración la interacción entre factores; como escaldado con microondas e inmersión, sacarosa a 40 y 55°Bx y temperatura entre 25 y 35°C. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado y la solución osmótica fue adicionada con ácido cítrico al 1% con la finalidad de estabilizar el chayote. Se estableció que la concentración final de ácido en el producto depende principalmente de la concentración de sacarosa en la solución con un 43 % de contribución estadística, seguida de las condiciones de escaldado con un 30%. La concentración en equilibrio de sacarosa en el chayote depende principalmente de la concentración de la solución osmótica y la temperatura; así, a 55°Bx y 35°C se obtiene la mayor concentración de sacarosa en el equilibrio. La actividad polifenoloxidasa depende de la concentración de sacarosa y temperatura, teniendo menor actividad relativa (0.2) a 55°Bx y 35°C; sin embargo disminuye la actividad con tratamiento térmico por inmersión y menor concentración de la solución osmótica. Con respecto a la Peroxidasa, la mayor disminución en la actividad fue para el tratamiento de escaldado por microondas, 40°Bx y 25°C, concluyéndose que tanto la concentración de ácido cítrico como sacarosa tienen un efecto sinérgico sobre la inactivación enzimática.

INTRODUCCIÓN

El chayote (*Sechium edule*) pertenece a la familia de las cucurbitáceas, se considera originario de México y América Central, y su importancia radica en su alto contenido de almidón (136g/kg en peso fresco) (Aung, Fouse y Kushad, 1991), así como por su contenido de fibra y minerales. Sin embargo, existe poca información sobre su estructura y propiedades físicas, químicas y los cambios asociados a los procesos de conservación. Uno de los métodos de procesamiento utilizado es la deshidratación osmótica (DO), esta disminuye en gran medida los costos energéticos del secado y es una alternativa para la estabilización de frutas y vegetales por disminución del agua disponible. (Sereny y Hubinger, 2001).

En la DO, los solutos se encuentran en la solución y atraviesan la membrana celular por permeación con la salida de agua desde el producto, existiendo transferencia de masa en dos direcciones opuestas, por lo que la DO se evalúa en términos de la pérdida de peso y ganancia de sólidos, dependiendo principalmente de las características del material (Barat, Fito y Chiralt, 2001). Son muchas las variables involucradas en el control de proceso de deshidratación osmótica, entre las que se encuentran la agitación, temperatura, geometría del producto,

presión hidrostática, utilización de recubrimientos, pretratamientos, etc. (Jiménez, Zambrano y Aguilar, 2004; Panádes y col., 2006).

La energía de microondas ha sido utilizada para llevar a cabo tratamientos térmicos en frutas con el fin de disminuir la actividad enzimática y modificar la permeabilidad celular, las enzimas que se encuentran presentes en frutas y vegetales son la peroxidasa (PO) y la polifenoloxidasa (PFO), junto con el tratamiento térmico, la DO contribuye a disminuir la cantidad de agua disponible, por lo que existe una modificación en la actividad de las enzimas que se encuentran presentes en el chayote (Jiménez y col., 2001)

Cuando se requiere establecer con sustento estadístico la interacción, influencia y optimización de procesos, es necesario utilizar un diseño de experimentos, entre los que se incluye la metodología Taguchi, que se utiliza con el fin de determinar cual es el efecto de diversos factores sobre las propiedades características de un material y optimizar las condiciones de estos factores. El arreglo ortogonal y la ANOVA son las principales herramientas de análisis. Mediante la ANOVA se estima el efecto de un factor sobre las propiedades llevando a cabo la experimentación con un mínimo de replicas. (Oztop, Sahin y Sumnu, 2007)

El objetivo de este estudio, fue evaluar la influencia del pretratamiento, concentración de la solución osmótica y temperatura sobre la actividad de polifenoloxidasas y peroxidadas en chayote deshidratado osmóticamente, mediante el empleo de un diseño ortogonal "Taguchi".

METODOLOGÍA

Las muestras de chayote se lavaron, pelaron y cortaron de 2 cm de largo 1 cm de ancho y 0.5 cm de espesor. Se colocaron 600 g de material cortado en bolsas de polietileno y se escaldaron en microondas por 1 min a 2450 MHz de frecuencia y 800 Watts de potencia radiada; se colocaron otros 600 g del material cortado en bolsa de polietileno y se escaldaron por inmersión en agua a 85 °C por 2 min. Pasando ambas balsas al recipiente con agua helada. Las muestras de cada pretratamiento, se sumergieron en solución de Xantana al 0.5 % por 30 s y se traspasaron a solución de cloruro de calcio por otros 30 s. Se procedió a traspasar las muestras en la solución osmótica, formulada con 0.1 % de benzoato de sodio y 1 % de ácido cítrico, de 40°Bx ó 55 °Bx, con calentamiento en microondas manteniendo una temperatura de 25 °C ó 35 °C de acuerdo a la metodología del diseño experimental. Después de alcanzar el equilibrio se procedió a evaluar los parámetros de acidez, por método volumétrico; actividad de la polifenoloxidasa (PFO) por espectroscopia a 420 nm y la peroxidasa (PO) a 480 nm

Actividad residual de la enzima

Una vez determinada la absorbancia en relación a la enzima correspondiente, se determinó la actividad residual como la relación entre la Absorbancia después del tratamiento con respecto a la absorbancia sin tratamiento (A/Ao). (Matsui y col., 2007)

Diseño Experimental.

Con la finalidad de estudiar la influencia de los factores sobre las variables de respuesta, cambio de acidez, °Bx, actividad peroxidasa (PO) y polifenoloxidasa (PFO) se utilizó un diseño Taguchi $L_{8}2^3$, considerando la relación señal a ruido. En la tabla 1, se muestran los factores y niveles considerados durante la experimentación.

Tabla 1. Factores y niveles diseño experimental

Factor	Nivel	
	1	2
Escaldado (A)	Microondas	Inmersión
Sacarosa (B)	40	55
Temperatura (C)	25	35

Los resultados obtenidos fueron analizados, utilizando MINITAB 14, con un nivel de significancia ($p=0.10$), obteniéndose los coeficientes, interacciones y influencia de cada uno de los factores estudiado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Una vez realizado en análisis estadístico ajustándolo a un modelo lineal, se estableció que el intercambio del ácido cítrico desde la solución osmótica hacia el chayote después de transcurridas 24 h, es descrito para un modelo de este tipo con un valor de $R=98.1\%$ y una R^2 -ajustada = 93.18% . Además del análisis de varianza realizado en relación al comportamiento de las medias, se tiene que los factores que tienen un efecto significativo sobre el comportamiento de permeación del ácido cítrico son el método de escaldado ($p=0.041$), la concentración de sacarosa en la solución ($p=0.022$) y la interacción entre estas variables ($p=0.031$).

En la figura 1, se muestra la influencia de los factores, sobre el comportamiento de la acidez, medida después del proceso de deshidratación osmótica, observándose que a los niveles evaluados, la temperatura no tiene influencia sobre la difusión de ácido cítrico, el escaldado por inmersión propicia un incremento en el ingreso de ácido cítrico hacia el chayote con un incremento de 17.5% de la acidez titulable reportada como la variación en ácido cítrico con respecto a su concentración inicial; a su vez cuando mayor es la concentración de la solución osmótica, disminuye la difusión de ácido cítrico, lo que se atribuye a la saturación con sacarosa en relación al recubrimiento utilizado (Xantana) y la modificación de la permeabilidad de la pared celular. En este sentido Emam-Djomeh, Djelveh y Gros en 2001, llevaron a cabo un estudio para evaluar las modificaciones en los coeficientes de difusión, en sistemas multicomponentes, llegando a la conclusión que al incrementar la concentración de sacarosa, disminuía la difusión de sal, considerando además que el recubrimiento utilizado, es selectivo en cuanto al comportamiento del agente osmótico.

En la Figura 2, se muestra el % de contribución de los factores, de donde la mayor influencia es la concentración de la solución osmótica con 43 %, seguida de la interacción entre el escaldado y la sacarosa con 30% y el pre-tatamiento de escaldado con 22 % de influencia, sobre la difusión de ácido cítrico hacia la muestra deshidratada.

Puesto que existen dos componentes que se difunden a través del chayote, del análisis de varianza indica, que en los niveles seleccionados no existe diferencia significativa en relación a los factores ($p>0.10$) respecto a la difusión de sacarosa. Sin embargo y a pesar de esto, es necesario establecer cual es el efecto de las interacciones, así como el % de contribución sobre el proceso de deshidratación osmótica.

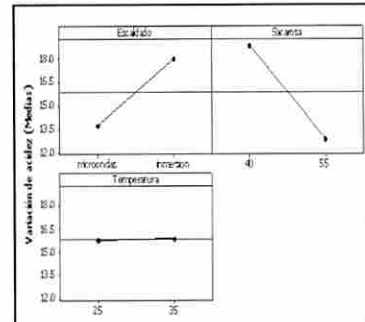


Figura 1 Efectos principales sobre la acidez

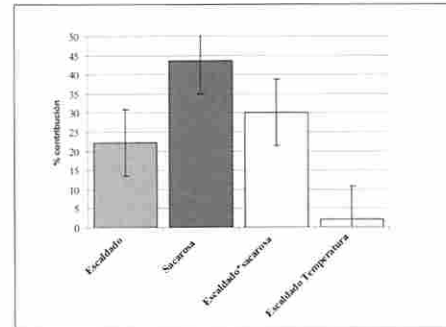


Figura 2. Contribución en el intercambio ácido cítrico

La figura 3(a, b, y c), muestran las interacciones, la 3(a) corresponde a la interacción entre el escaldado y la temperatura, el escaldado con microondas, es independiente de la temperatura sobre las condiciones de equilibrio en la DO, siendo mayor la concentración alcanzada en las escaldadas por inmersión, con valores máximos de 30.5 °Bx en el chayote a 35°C. En la 3(b), se observa el efecto de la temperatura y concentración de la solución, hay interacción entre los 40°Bx y la temperatura, que implica que la difusión de agente osmótico es independiente de la temperatura, mientras que a 55°Bx y temperatura de 35°C, se tiene la mayor difusión con un valor de 31.5°Bx. En la 3(c) el escaldado con microondas y solución osmótica de 55°Bx, incrementa considerablemente la difusión de sacarosa, a través del chayote alcanzando en el equilibrio una concentración de 32.5°Bx, mostrando un comportamiento inverso al utilizar escaldado por inmersión en agua, a 40°Bx, mayor difusión alcanzando un máximo de 29.3°Bx.

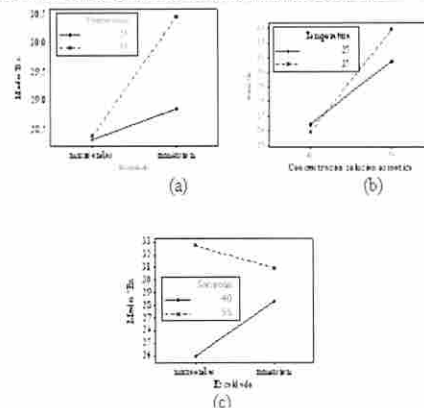


Figura 3 interacciones de los factores sobre el ingreso de sacarosa.

En la Figura 4, se muestra la contribución de las variables sobre la concentración en equilibrio, en el chayote deshidratado osmóticamente, se observa que la variable de mayor importancia es la concentración de la solución, seguida de la interacción entre el escaldado y la concentración.

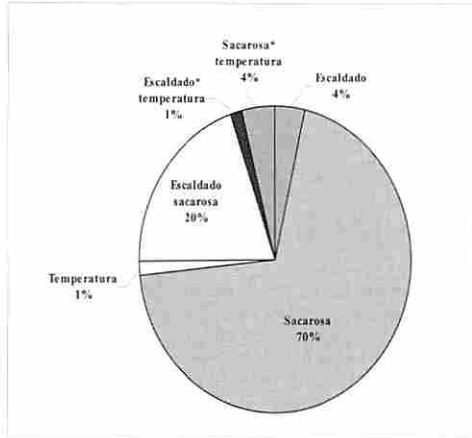


Figura 4. Contribución de los factores en la difusión de sacarosa.

En la Figura 5, se muestra el comportamiento de la actividad PFO, la menor actividad relativa en el chayote, se presenta a 35°C, 55°Bx, y escaldadas por microondas, lo que se relaciona con la mayor difusión de agente osmótico, que contribuye a disminuir la actividad acuosa y por ende la movilidad de la enzima como se mostró en la figura 3. A 25°C, la menor actividad PFO, se presenta en las muestras escaldadas por inmersión y solución a 40°Bx, en este caso la disminución de la actividad de la enzima es debido a que bajo estas condiciones de proceso, es mayor la difusión de ácido cítrico, incrementándose casi en 18 % el contenido de este en el chayote, siendo el cambio de acidez el factores que contribuye a disminuir la actividad de la enzima.

En la figura 6, se muestra la actividad relativa para la PO, observándose que la menor actividad relativa, se presenta en las muestras escaldadas por microondas en solución osmótica a 40°Bx y 25°C, seguidas las inmersas en agua a 25°C, independientemente de la concentración de la solución osmótica. Con respecto a la actividad enzimática Matsui y col., (2007), estudiaron la inactivación de PO y PFO en coco verde, simulando la composición del agua, estableciendo que la concentración de sacarosa tiene mayor influencia sobre la PO que en la PFO, comportamiento que también es importante en el caso del chayote, ya que con excepción de los puntos mencionados para PFO, el resto de los datos tienen una actividad relativa mayor que para la PO.

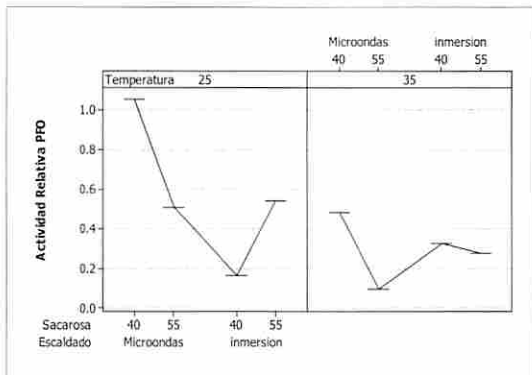


Figura 5. Efectos sobre la actividad relativa de PFO

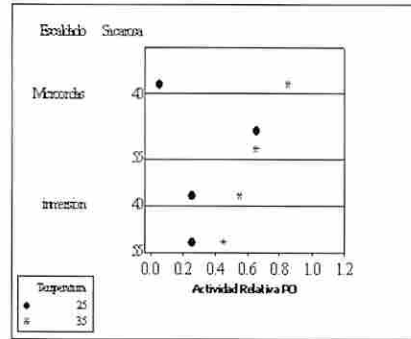


Figura 6. Influencia de los factores sobre la actividad PO

CONCLUSIONES

En condiciones de equilibrio, los factores que tienen mayor influencia sobre el intercambio de ácido cítrico son la concentración de sacarosa en la solución osmótica y las condiciones de escaldado.

La máxima concentración de ácido cítrico se alcanza cuando la concentración del agente osmótico es de 40°Bx y las muestras se escaldan por inmersión en agua.

El ácido cítrico y la concentración de la solución osmótica tienen un comportamiento sinérgico en cuanto a la inactivación de la PFO en chayote, ya que a 40°Bx, inmersión en agua y temperatura de 35°C, se muestra una menor actividad relativa.

AGRADECIMIENTOS

A Ivone Rodríguez Jiménez y Nancy Yadira Olmedo Galindo, estudiantes de la carrera de Ingeniería Química Industrial de La Escuela Superior de Ingeniería Química del IPN por su dedicación y cooperación para llevar a cabo la presente investigación.

REFERENCIAS

Aung, L. H., Fouse, D. C., & Kushad, M. (1991). The distribution of carbohydrates in the organs of *Sechium edule* Sw. *J. Horticultural Science*, 66(2): 253-257.

Sereno, A. M., & Hubinger, M. D. (2001). Prediction of water activity of osmotic solutions. *J. Food Eng.* 49:103-114.

Barat, J. M., Chiralt, A., & Fito, P. (2001). Effect of osmotic solution concentration, temperature and vacuum impregnation pretreatment on osmotic dehydration kinetics of apple slices. *Food Sci and Technol Int*, 7(5), 451-456.

Jimenez V. M. E., Zambrano Z. M.L. y Aguilar R. M.R., (2004) "Osmotic Dehydration Of Kiwi and Color Conservation by Microwave Energy Treatment" International Congress Engineering and Food (ICEF9), 412-417.

Panadés G., Fito P., Aguilar Y., Nuñez V. M. y Acosta V., (2006). "Osmotic dehydration of guava: Influence of operating parameters on process kinetics" *J. Food Eng* 72:383-389.

Jiménez M. E., Zambrano M. L. Hernández H. y Aguilar M. R. (2001) "Efecto de la energía de microondas sobre el pardeamiento enzimático del puré de aguacate" *Información Científica y Tecnológica* 12:6 47-50

Oztop H. M., Sahin S., Sumnu G. (2007) "Optimization of microwave frying of potato slices by using Taguchi technique" *J. Food Eng* 79: 83-91.

Emam-Djomeh Z., Djelveh G. and Gros J.-B. (2001) "Osmotic Dehydration of Foods in a Multicomponent Solution Part I. Lowering of Solute Uptake in Agar Gels Diffusion Considerations" *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 34, 312-318 .

Matsui K.N., Granado L.M., Oliveira P.V. y Tadini C.C. (2007). "Peroxidase and polyphenol oxidase thermal inactivation by microwaves in green coconut water simulated solutions" *LWT* 40: 852-859.

DESARROLLO DE PRODUCTOS ALIMENTICIOS A PARTIR DE CARNE DE ESTURIÓN (*Acipenser baerii* y *Acipenser ruthenus*) CULTIVADO EN URUGUAY¹

Bertullo, E. (1); Fernández, S.; Campot, J.; Gómez, F. (2) y Pollak, A.(3) ii

**Instituto de Investigaciones Pesqueras “Prof. Dr. Víctor H. Bertullo”
Facultad de Veterinaria Universidad de la República
Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC)
Programa de Vinculación con el Sector Productivo - 2005 -2006**

Palabras clave: Tecnología procesamiento, Esturión, aprovechamiento, alimento.

RESUMEN

La empresa Esturiones del Río Negro S.A. ha desarrollado en Uruguay el cultivo del Esturión, principalmente de las especies *Acipenser baerii* (Esturión siberiano) y *Acipenser ruthenus* (Esturión sterlet) y desde 1995 posee sus instalaciones productivas ubicadas sobre la Represa de Baygorria, en el curso del Río Negro, en el centro del país.

El objetivo primario de este cultivo es la producción de CAVIAR tipo “Oscetra” y el proceso para su obtención implica hasta el momento, el sacrificio de los ejemplares de esturiones hembra. La granja cuenta, además con un stock aproximado al 50% de machos, que son comercializados en fresco para uso gastronómico, principalmente en el mercado interno y en el Regional, existiendo por tanto disponibilidad de carne utilizable para el consumo humano en forma de productos pesqueros con mayor valor.

El objetivo general de esta investigación es el logro de un proceso y de un producto diferenciado que pueda llegar a nichos de mercado de alternativa, no sólo con la incorporación de una tecnología tradicional como lo es el proceso de ahumado de pescado, sino también para lograr un mayor precio en el mercado, preferentemente internacional.

La metodología aplicada en este desarrollo fue la del ahumado en caliente, para lo cual se modificaron y adecuaron diferentes parámetros para dotar al producto de la inocuidad y de los atributos de calidad comercial que hicieran posible su puesta en el mercado.

La materia prima consistió básicamente en filetes de esturión sin piel, congelados a una temperatura final de producto de -18° C. Como fuente de humo se utilizó aserrín y viruta en una mezcla de maderas duras y semi-duras de fácil obtención en Uruguay (*Lapacho* y *Eucaliptus*). Fue utilizado un ahumador piloto de origen japonés para el proceso y se determinaron parámetros físicos tales como temperatura (T) y humedad de producto, registrándose para su posterior evaluación.

Los resultados obtenidos han permitido establecer la concentración y los tiempos de salazón, las cargas máximas en el equipo (Kg.), tiempos de cocción y ahumado que determinan la calidad del producto. Se ha complementado con el análisis de parámetros objetivos que aportan información sobre la composición del producto.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de esturión (*Acipenser baerii* y *Acipenser ruthenus*) conocidos internacionalmente como Esturión Siberiano y Esturión Sterlet respectivamente se ha desarrollado en Uruguay por parte de la empresa Esturiones del Río Negro S.A. desde 1995, en las instalaciones ubicadas sobre la Represa de Baygorria en el centro del país. La producción básica es de Caviar tipo Oscetra, producto del cual la empresa ya ha comenzado a realizar exportaciones en virtud de la calidad del producto logrado y de una demanda creciente de mercado.

El proceso de obtención de caviar obliga por el momento al sacrificio de los ejemplares de esturiones hembra y existe una oferta de un 50% de machos, lo cual lleva a que una parte de la carne obtenida se exporte en fresco o congelada, existiendo interés por una oferta agregada de otros productos pesqueros demandados por el mercado.

La empresa es la única en el hemisferio Sur dedicada al cultivo y procesamiento de esta especie exótica y está demostrando su eficiencia productiva y tiene su Planta de procesamiento habilitada sanitariamente para exportar a los principales mercados del mundo (EE.UU. de América y Unión Europea).

Los antecedentes universitarios del Instituto de Investigaciones Pesqueras (IIP) en el desarrollo de nuevos productos alimenticios a partir de recursos pesqueros estimularon a la empresa contraparte para colaborar con el proyecto y planteó su necesidad de optimizar el aprovechamiento de la carne de los esturiones. Los machos jóvenes son sacrificados también luego de alcanzar un peso mínimo (vivo) de entre 1,00 y 1,5 Kg. / pieza, por un tema de rentabilidad económica y para limitar los gastos de funcionamiento derivados del manejo y de la alimentación.

En centros de producción de España y Francia el principal aprovechamiento de la carne de Esturión se hace a través de productos alimenticios ahumados, que se venden en forma de filetes ahumados con o sin piel. El filete ahumado tiene una muy alta cotización en el mercado y en Europa oscilan entre €30 y €40 por Kg. y existe una creciente demanda.

Por otra parte, del proceso de corte manual para la obtención de filetes queda un volumen de recortes de músculo que podría ser utilizada como materia prima para el desarrollo de pulpas recuperadas mecánicamente y sus productos derivados: hamburguesas, embutidos, etc.

Objetivo general: Diseñar, desarrollar y transferir a la industria local, tecnologías de proceso para obtención de productos alimenticios sobre la base de carne de esturión, en función de una demanda del mercado para estos productos exóticos de calidad y alto precio.

Objetivos particulares

1. Seleccionar la porción comestible de los especímenes para un mejor aprovechamiento de la carne para la optimización de los rendimientos productivos.
2. Utilizar las tecnologías de la salazón y del ahumado como base de los ensayos a realizarse en la Planta Piloto.
3. Definir los parámetros tecnológicos más apropiados para obtener un producto inocuo, atractivo desde el punto de vista alimentario y con una calidad pre-definida, ante una demanda específica del mercado.
4. Lograr un empaque adecuado, seguro y acorde a los requerimientos normativos y del mercado con el propósito de colaborar en la promoción de la exportación del producto por parte de la empresa contraparte.

METODOLOGÍA

La metodología aplicada se basó en el análisis previo de la materia prima filete, para luego procesarla por ahumado en caliente de acuerdo al detalle mostrado en el flujograma de proceso incluido en este trabajo. En los consecutivos ensayos se ajustaron las variables de salazón, tiempos de secado y temperaturas aplicadas, registrándose para su posterior tratamiento estadístico.

La **materia prima** consistió en filetes de esturión sin piel, congelados a una temperatura final de producto de -18° C. Como fuente de humo se utilizó aserrín y viruta en una mezcla

de maderas duras y semi-duras de fácil obtención en Uruguay (*Lapacho* y *Eucaliptus*). El proceso de ahumado se efectuó en un ahumador piloto con capacidad para 120 kg. de producto.

RESULTADOS

Se resumen en las siguientes tablas. Los parámetros objetivos del producto indicaron una posible aceptación, por lo que se realizaron evaluaciones sensoriales de las cualidades del producto, que fue aceptado por los potenciales consumidores.

Tamaño y peso individual de los filetes de esturión sin piel.

	Máximo	Minimo	Promedio
Largo (cm)	72	28	54
Espesor (mm)	40	15	24
Peso (gramos)	2610	508	1073

N = 82 ⁽²⁾

Resultados evaluación sensorial filetes esturión descongelados

Atributo	Lote N°	1	2	3	4
Apariencia general y brillo		AA	NA	AA	AA
Color de la grasa		AA	NA	AA	AA
Color del músculo rojo		AA	NA	AA	AA
Color del músculo blanco		AA	NA	AA	AA
Textura / elasticidad		AA	NA	AA	AA
Olor		AA	NA	AA	AA

n = 25 AA= Aceptable NA= No Aceptable ⁽²⁾

Composición química de filetes de esturión sin piel (\bar{X})

Proteínas (‰)	Lípidos (‰)	Cenizas (‰)	Humedad (‰)
18,36	11,6	1,12	70,28

N = 4 ⁽²⁾

Los rendimientos de proceso permitieron el cálculo de los costos directos de producción, los cuales se integraron a los Kg./hora/hombre insumidos en el proceso, los consumos de ingredientes, de energía eléctrica y los materiales de empaque y de limpieza de las instalaciones utilizados durante cada "batch".

Rendimientos del proceso.

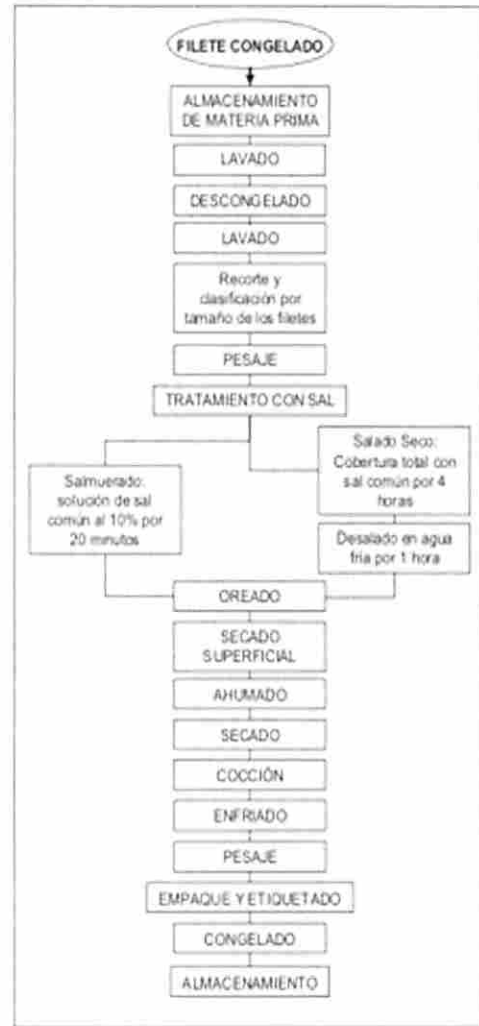
Materia prima	Producto final	Media de Rendimiento
Filete sin piel IQF	Filete ahumado en caliente	74%

n = 25 ⁽²⁾

Composición química del producto ahumado final (media).

Proteínas (‰)	Lípidos (‰)	Cenizas (‰)	Humedad (‰)
23,2	9,73	1,93	64,5

n = 5 ⁽²⁾



Flujograma del proceso de ahumado de filetes de esturión desarrollado sobre la base de los ensayos realizados para el proyecto.

Cloruros y a_w en la porción comestible del producto final

Producto	Cloruros		a _w	
	mm.	max.	mm.	máx.
Filete salado en salmuera	1.2	1.6	0.94	0.985
Filete salado en seco	1.8	3.3	0.93	0.945

N = 4 ⁽²⁾

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Fueron las siguientes:

- Las pruebas realizadas con filetes frescos permitieron establecer que los tiempos totales de permanencia del producto dentro del equipo ahumador fueron mayores que cuando se trabajó con filetes congelados.
- Respecto del material generador de humo: La mezcla de aserrín de *Eucaliptus* y viruta de *Lapacho* demostró poseer las condiciones correctas para su aplicación. Es muy importante al momento de determinar la fuente de humo, poder asegurar su abastecimiento constante. En este aspecto, estos materiales son de fácil obtención en Uruguay. Además de ser de bajo costo, no ofrecen inconvenientes desde el

- punto de vista tecnológico ya que proveen de humo en cantidad y calidad convenientes para el proceso.
- Respecto del material de empaque: La recomendación final es la utilización de la metodología del envasado al vacío.
- Respecto del proceso en sí mismo: La optimización del nivel de sal en el producto final fue el problema tecnológico más importante a resolver durante la investigación. Se puede evaluar que para el ahumado de filetes de esturión ensayado, existe una altísima incidencia de diferentes variables que afectan el resultado homogéneo de los ensayos, a saber: las condiciones físicas del filete, especialmente el largo y espesor; las condiciones bromatológicas propias de la materia prima utilizada, especialmente el contenido en lípidos y humedad; las condiciones de proceso y almacenamiento hasta el ahumado; las condiciones meteorológicas el día del ensayo –temperatura y humedad relativa ambiente- inciden sobre el producto, desde el momento que uno de los objetivos de la técnica aplicada es la reducción de la humedad en el producto. Estos factores han determinado que los niveles de sal en músculo se presenten en el producto final con valores heterogéneos.
- Teniendo en cuenta las condiciones del equipo y de las diferentes calidades de materia prima estudiadas, fueron terminados los parámetros de tiempos y temperaturas de proceso ya citados.
- Respecto de la evaluación sensorial: No fue posible contar con paneles de jueces expertos y en su lugar se realizaron varias instancias de pruebas con consumidores no experimentados. De las degustaciones efectuadas, es destacable el resultado obtenido de la que se llevó a cabo con

un público compuesto por Chefs de restaurantes importantes de la ciudad de Montevideo (la mayoría catalogados 4 y 5 tenedores) y posibles interesados en adquirir este tipo de producto. De esta prueba se puede concluir que el producto desarrollado tiene una interesante aceptación en un posible público objetivo que está acostumbrado a probar productos de calidad y sobre todo que conocen el esturión ahumado que se comercializa en Europa y USA.

- Respecto del etiquetado: Se hace especial énfasis en que el etiquetado de este producto deberá ser muy preciso en cuanto a que especifique claramente que antes del consumo se debe descongelar fuera del envase original.

En razón de que la extensión de este resumen excedería las pautas de publicación específicas, las **Referencias Bibliográficas** y más detalles de la investigación pueden ser consultadas en el trabajo original.

DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES DE TEMPERATURA EN UN PROCESO DE SECADO DE UCHUVA (*Physalis peruviana*) POR AIRE CALIENTE CON OSMODESHIDRATACIÓN COMO PRETRATAMIENTO (CINÉTICA DE DEGRADACIÓN DE β -CAROTENO)

Castro, Adriana Maria; Rodriguez, Ligia; y Vargas, Edgar Mauricio
UNIVERSIDAD JORGE TADEO LOZANO
INGENIERÍA DE ALIMENTOS
Carrera 4 No. 22-61
BOGOTÁ – COLOMBIA

Palabras Clave: Procesamiento de alimentos, Uchuva (*Physalis Peruviana*), β -caroteno, secado aire caliente, deshidratación osmótica.

RESUMEN

En este trabajo se determinaron las condiciones de temperatura más favorable para un proceso de secado de uchuva (*Physalis peruviana*) por aire caliente, con deshidratación osmótica (DO) como pretratamiento. Se realizó un seguimiento de la degradación de β -caroteno a diferentes condiciones del proceso. Se encontró una pérdida total de β -caroteno del 98 % a la fruta tratada con aire caliente a 60 °C y pretratada por DO; esta pérdida fue atribuida al oxígeno, la temperatura y lixiviación de la provitamina de la fruta. Es importante resaltar que solo la lixiviación contribuyó con el 80 % de esta. La fruta que no recibió DO y fue deshidratada por aire caliente a 40 °C, presentó un menor nivel de pérdida total de β -caroteno el cual alcanzó un 28%. El tiempo de secado para alcanzar una humedad cercana de 2,5 % en base seca, para la fruta sin DO fue 7, 9 y 12 horas a 40, 50 y 60 °C respectivamente. Para el caso de la fruta que recibió DO el tiempo de secado fue de 6, 5 y 4 horas a 40, 50 y 60 °C respectivamente. Las cinéticas de degradación encontradas fueron de primer orden. El estudio de estimación de costos de secado utilizando diversos factores económicos encontró que la mejor temperatura de proceso es 60 °C y sin el DO, con un costo de \$374.42/Kg de uchuva.

INTRODUCCION

Colombia es el primer productor mundial de uchuva con 11500 ton/año CCI (2002); sin embargo los excedentes de fruta que no se destinan a la exportación alcanzan un 50% del total la producción; esta fruta no es exportable debido a su tamaño y puede ser utilizada para nuevos productos deshidratados.

Un aspecto destacable es que la calidad de la uchuva Colombiana se caracteriza por su coloración y mayor contenido de azúcares y β -Caroteno (1730 UI de Vitamina A); este último actúa como antioxidante y es muy importante en la prevención de ciertas enfermedades del ser humano. Lo anterior ha hecho que el valor nutricional de la uchuva Colombiana sea de gran interés para los mercados internacionales y es por esto que resulta de gran importancia conocer qué factores intervienen en la degradación de los carotenoides durante procesos de secado por aire caliente y osmódeshidratación.

Se conoce la influencia que tiene la temperatura en la degradación de carotenos como factor acelerador en la pérdida durante procesos de cocción, secado y escaldado; además existen estudios realizados en frutas, hortalizas y productos derivados Chen et al. (1998), Cole et al., (1957) y Henry et al., (2000); sin embargo, no hay estudios que revelen la degradación de β -caroteno durante la deshidratación de la uchuva por aire caliente y OD y los costos asociados a este.

MATERIALES Y MÉTODO

Materiales.

Se utilizó uchuva eco tipo Colombia de la finca El Recuerdo localizada en Ventaquemada en el departamento de Boyacá, con un peso promedio entre 5 a 6 g y según la carta de color (NTC 4580) un estado de madurez de color 5.

Métodos.

Caracterización fisicoquímica

Se midió la húmeda según el método oficial 20.013 (A.O.A.C. 1980), el pH usando un titulador automático marca Schott

modelo CG842 por inmersión del electrodo en la muestra, previa calibración con soluciones tampón de pH 2, 4, 7 y 10 a 25°C (A.O.A.C. 1984). Los sólidos solubles se determinaron midiendo el índice de refracción de las muestras de frutas en un refractómetro a 20°C (A.O.A.C. 1990). La actividad de agua se midió con un activímetro novasina MS-1. La acidez titulable se determinó según el método oficial 942.15 (A.O.A.C. 1990). El índice de madurez se calculó a partir de la relación entre grados Brix totales y el % de ácido cítrico. Los datos fisicoquímicos se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Análisis físico químico de la Uchuva Colombiana

Análisis proximal

En la determinación de grasa se aplicó el método oficial 7.060 (A.O.A.C 1984) y 920.39 (A.O.A.C 1990). La determinación de proteína se realizó según NTC 1055 (ICONTEC, 1999). Para determinar la fibra cruda se empleó el método oficial 7.066 (A.O.A.C 1984) y 962.09 (A.O.A.C 1990). En la determinación de cenizas se aplicó el método 7.009 (A.O.A.C. 1984) y 942.05 (A.O.A.C. 1990). Para la determinación de carbohidratos se realizó un cálculo entre la diferencia de 100 y los porcentajes de humedad, ceniza, grasa y fibra cruda Bernal (1998). Los datos de análisis proximal se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Análisis proximal de la Uchuva Colombiana

Procedimiento general para la deshidratación de uchuva

Componentes	% p/p
Agua	87
Carbohidratos	10,52
Fibra	0,34
Grasa	0,51
Ceniza	0,54
Proteínas	1,09

Inicialmente se seleccionó la fruta, retirando aquellas que presentaron daños mecánicos y ataques biológicos. Una vez seleccionada, se clasificó de acuerdo al grado de madurez; para ello se observó el color externo del fruto y del cáliz, según la tabla de color del fruto y cáliz de uchuva de la NTC 4580 de ICONTEC, color entre 4 y 5. Una vez la fruta fue seleccionada y clasificada se dividió en dos partes, una parte se destinó a deshidratarla directamente en un secador directo de bandejas S-401 marca GranEl a 40 °C, 50 °C y 60 °C; a la otra se le aplicó una DO con una solución de sacarosa a 70 °Brix durante 16 horas a 40 °C y luego se prosiguió a secarla a 40 °C, 50 °C y 60 °C hasta obtener una humedad cercana del 2.5% de humedad (base seca). Durante la operación de secado con aire caliente, se mantuvo constante la velocidad del aire y su dirección (tangencial al material húmedo); la humedad relativa del aire para todos los ensayos fue aproximadamente del 80 %.

Determinación de la cinética de degradación de β -caroteno

Para la determinación de la cinética de degradación de β -caroteno, se construyó una curva de calibración con el fin conocer el contenido en el tiempo de la provitamina en los ensayos realizados. Esta curva se realizó mediante un método espectrofotométrico a partir del patrón de β -caroteno Sigma Co., se prepararon soluciones a diferentes concentraciones (2, 5, 10, 250, 500, 1000, 2000 ppm) con el fin de construir dicha

curva; se realizó un barrido en el espectrofotómetro (Helios β No. UVB 052205) entre 400 x 500 nm, luego se determinó la longitud de onda de pico de mayor absorbancia. Bernal (1998).

Extracción de β -Caroteno

La extracción de la provitamina de la fruta deshidratada se realizó por maceración en un mortero, utilizando como sustancias extractoras una mezcla de n-hexano y acetona (1:1); el extracto obtenido se pasó por una columna que contenía fosfato tricálcico que permitió el paso de los carotenoides y retenga otras sustancias como las clorofilas y agua. La concentración del β -caroteno en el extracto se determinó leyendo en el espectrofotómetro a 450nm e interpolando los valores en la curva de calibración, Bernal (1998).

Análisis estadísticos

Los parámetros experimentales evaluados en el trabajo se analizaron a partir de ANOVAS, utilizándose el método LSD (mínimas diferencias significativas), con un nivel de significación del 95% ($p=0.05$). El análisis de varianza se realizó con el paquete estadístico STATGRAPHICS plus versión 5.1. Se utilizó un diseño factorial de experimentos de dos factores (temperatura y pretratamiento); el primero con tres niveles (40, 50 y 60 °C) y el segundo con dos niveles (con y sin pretratamiento). Todos los ensayos se realizaron por triplicado y se calcularon las desviaciones estándar.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se muestran los cambios fisicoquímicos en la uchuva deshidratada respecto a la uchuva fresca. El bajo valor de la actividad de agua es debido a la deshidratación, Barbosa (2000). Se observó un descenso en el contenido de acidez, el cual cambió de 1.970 g ácido cítrico/100g para la muestra de fruta fresca a 1.128 g ácido cítrico/100g muestra para muestra de fruta deshidratada; este descenso es debido a la degradación de la vitamina C durante el secado y la DO, ya que existe una relación entre el contenido de esta vitamina y el contenido de acidez Leskova et al.,(2006), Burg et al., (1995), Laing et al.,(1978).

Los resultados del análisis proximal reportados en la Tabla 2 proporcionan una noción acerca de la composición básica de la materia prima en estudio, importante para caracterizarla, ya que estos valores varían según el origen, eco tipo, estado de madurez, clima, ubicación geográfica, manipulación post-cosecha y almacenamiento. Se destacan los valores de humedad 87%, carbohidratos 10,52 y proteína 1,09%.

Al comparar los contenidos de β -caroteno en las uchuvas deshidratadas con y sin pretratamiento de DO al final del proceso (alcanzar una humedad cercana al 2,5 %), se observó un porcentaje mayor de pérdida de la provitamina a la fruta que recibió pretratamiento. Los valores se observan en la Tabla 3.

	40 °C	50 °C	60 °C
Con DO	95 %	96 %	98 %
Sin DO	28 %	41 %	43 %

Tabla 3. Porcentaje de pérdida total de β -caroteno con base en el contenido inicial de la fruta.

Para cuantificar la pérdida de la provitamina solo en el proceso de DO (pretratamiento), se realizó un balance de β -caroteno en el proceso, luego se cuantificó la provitamina en el jarabe (agua-sacarosa) y se comparó con los contenidos β -caroteno de la uchuva inicial y final; este análisis dio un 80 % de la pérdida de β -caroteno debido a lixiviación de este de la matriz alimentaria hacia la solución osmótica. Estudios realizados sobre la degradación de licopeno en tomate, encontraron un efecto protector de la DO sobre la degradación del carotenoide debido al oxígeno dentro de la fruta, pero no debido a la temperatura. La explicación de dicho efecto radica en el fortalecimiento de la unión entre el carotenoide y la matriz; la solución osmótica permanece en la superficie de la fruta, evitando el ingreso del oxígeno al tejido; de esta forma se reduce la degradación del la provitamina dentro de la matriz alimentaria Shi, (1999).

En la Figura 1 se ve la degradación del β -caroteno (miligramos de β -caroteno por gramo seco de uchuva) con el tiempo y la temperatura para los ensayos de deshidratación sin DO; se observa que para las temperaturas de procesamiento de 40, 50 y 60 °C, los tiempos fueron 12, 9 y 7 horas respectivamente. Dicha degradación pudo deberse a la oxidación del β -caroteno debido al oxígeno y temperatura presentes en el aire de secado, siendo capaz hasta de romper el esqueleto hidrocarbonato de la provitamina Chen et al., (1998), Cole et al., (1957), Henry et al., (2000) y Meléndez et al., (2004).

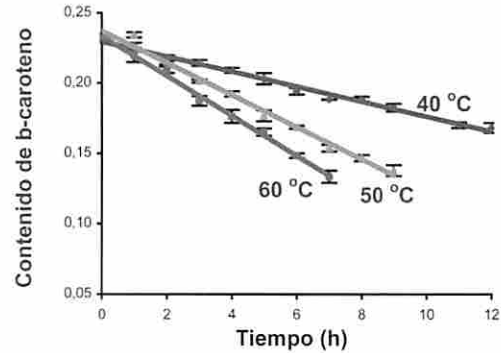


Figura 1. Contenido β -caroteno a través del tiempo de deshidratación sin DO como pretratamiento.

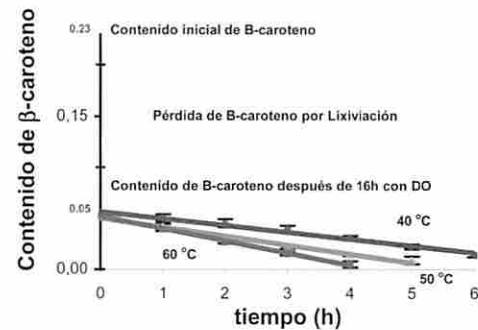


Figura 2. Contenido β -caroteno a través del tiempo de deshidratación con DO como pretratamiento.

En la Figura 2 se ve la degradación del β -caroteno (miligramos de β -caroteno por gramo seco de uchuva) con el tiempo y la temperatura para los ensayos de deshidratación con DO; se observó que para las temperaturas de procesamiento de 40, 50 y 60 °C, los tiempos fueron 6, 5 y 4 horas respectivamente. Esta reducción en el tiempo total fue debido a que hubo una pérdida del 30 % de agua debida al proceso de DO. Vale la pena recordar que es en este proceso donde se pierde el 80 % del β -caroteno inicial de la uchuva por lixiviación.

En la Figura 3 se observar el ajuste de los datos de contenido de β -caroteno (miligramos de β -caroteno por gramo seco de uchuva) a una cinética de primer orden para el proceso de deshidratación sin DO. Los procesos con pretratamiento también se ajustaron al mismo modelo cinético. Otros estudios realizados en otras frutas han encontrado cinéticas con el mismo orden de reacción. Karabulut et al., (2006), Dewanto et al., (2002), Krinsky et al., (2004), Meléndez et al., (2004) y Chen et al. (2005). Los resultados cinética para la degradación de β -caroteno durante la deshidratación de la fruta con DO como pretratamiento, presenta las siguientes constantes de velocidad de degradación: 0.22, 0.35 y 0.55 (h^{-1}) para temperaturas de secado de 40, 50 y 60°C respectivamente. Para la fruta deshidratada sin DO, las constantes de degradación fueron 0.03, 0.06 y 0.08 (h^{-1}) para temperaturas de secado de 40, 50 y 60°C respectivamente. El r^2 encontrado para el ajuste de los modelos fue de 0,99. Estos indican la rápida degradación de la provitamina a medida que aumenta la temperatura.

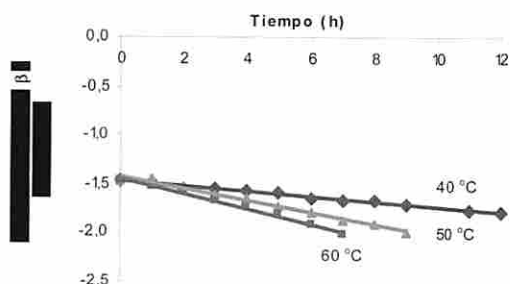


Figura 3. Cinética de degradación del β-caroteno a diferentes temperaturas sin DO como pretratamiento.

En la Figura 4 se observa la forma de calcular gráficamente la energía de activación para la reacción de degradación del β-caroteno, utilizando como modelo la ecuación de Arrhenius, calculada para el proceso de deshidratación sin pretratamiento. Los valores obtenidos fueron 45815 (J/mol) para los ensayos con pretratamiento y 49041 (J/mol) para los ensayos sin pretratamiento. Valores de 3.9×10^4 J/mol han sido reportados para la degradación de clorofila y β-caroteno en procesamientos con calor similares Chen et al. (1998).

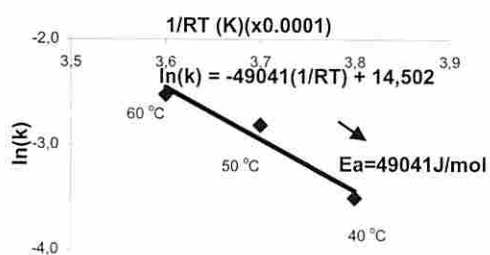


Figura 4. Determinación de la energía de activación para la degradación del β-caroteno para la deshidratación sin DO.

Por último se realizó un estudio de estimación de costos de secado por aire caliente utilizando diversos factores económicos (amortización, intereses, seguros, mano de obra, consumo de combustible, electricidad, gastos de administración y mantenimiento) para cada uno de las temperaturas; se encontró que la mejor temperatura de procesamiento era 60 °C, sin utilizar el pretratamiento con DO, con un costo aproximando de procesamiento de \$374.42/Kg de uchuva.

CONCLUSIONES

La temperatura escogida para la deshidratación fue 60°C durante 7 horas sin pretratamiento, presentando una degradación del 43% de la provitamina con un costo aproximando de procesamiento de \$374.42/Kg de uchuva.

La DO como pretratamiento no favorece el contenido de la provitamina durante la deshidratación debido a la lixiviación ocurrida llega a un valor del 80%.

La degradación de β-caroteno durante la deshidratación por aire caliente de la uchuva cumple una cinética de primer orden.

Los valores de energía de activación para la degradación de β-caroteno fueron: 45815 (J/mol) para los ensayos con DO y 49041 (J/mol) para los ensayos sin DO.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Jorge Tadeo Lozano, Programa de Ingeniería de Alimentos y al Grupo de Investigación APRA por financiar este proyecto.

BIBLIOGRAFIA Y REFERENCIAS

- Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (1980, 1984, 1990). Official Methods of analysis. W. Horwitz (ed.), Washington.
- Bernal, I. (1998), Análisis de Alimentos. Academia colombiana de ciencias exactas, físicas y naturales, colección Julio Carroza Valenzuela No.2. Tercera edición. Bogotá.
- Barbosa, G.; vega, H. 2000. Deshidratación de alimentos. Editorial Acirbia S.A. España. 296p.
- Burg, P.; Fraile, P.; 1995. Vitamin C destruction during the cooking of potato dish. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie 28 (5):506-514.
- CCI. (Corporación Colombia Internacional). (2002). Perfil de producto No.13.
- Chen BH, Huang JH. (1998). Degradation and isomerization of chlorophyll and β-carotene as affected by various heating and illumination treatments. Food Chemistry. 62: 299-307.
- Chen, JH.; Tai, C.; Chen, BH. (2005). Effects of different drying treatments on the stability of carotenoids in Taiwanese mango (*Mangifera indica* L.). Food Chemistry(100):1005-1010.
- Cole ER, Kapur NS. (1957). The stability of lycopene. I- Degradation by oxygen. Journal of the Science of Food and Agriculture. 8: 360-365.
- Dewanto, V.; Adom, K.; Liu, R. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. Journal of the Agricultural and Food Chemistry. (50): 3010-3014.
- Henry LK, Puspitasari-Nienaber NL, Jarén-Galán M, Van Breemen RB, Catignani GL, Schwartz SJ. (2000). Effects of ozone and oxygen on the degradation of carotenoids in an aqueous model system. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 48(10): 5008-5013.
- ICONTEC. (1999). Frutas frescas. Uchuva. Especificaciones. Norma Técnica Colombiana NTC 4580. Instituto Colombiano de Normas Técnicas, Bogotá. 15 p.
- Karabulut, I.; Topcub, A.; Duran, A.; Turan, S. (2006). Effect of hot air drying and sun drying on color values and β-carotene content of apricot (*Prunus armenica* L.). Food Science and Technology. (40):753-758
- Krinsky, N.; Mayne, S.; Sies, H. (2004). Carotenoids in health and disease. Marcel Dekker edition. USA.
- Laing, B.; Schlueter, D.L.; Labuzza, T.P. 1978. Degradation kinetics of ascorbic acid at high temperature and water activity. Journal of Food Science (43):1440-1443.
- Leskova, E.; Kubikova, J.; Kovacicova, E.; Holcikova, K. 2006. Vitamin losses: Retention during heat treatment and continual changes expressed by mathematical models. Journal of Food Composition and Analysis. (19):252-276.
- Meléndez, A.; Vicario, I.; Heredia, J. (2004). Estabilidad de los pigmentos carotenoides en alimentos. Archivos latinoamericanos de nutrición. 54 (2):65-74.
- Shi, J.; Maguer, L.; Kakuda, Y.; Liptay, A. 1999. Lycopene degradation and isomerization in tomato dehydration. Food research international. (32):15-21.

ELABORACION DE UN POSTRE TIPO ATE CON ALTO CONTENIDO EN FIBRA

Cortés, G. Alicia; Rodríguez M. José Luis; Sánchez Ch. Xariss; Torres E. Jessica

ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL

Pról. Manual Carpio y Plan de Ayala S/No. Col Plutarco Elías Calles

México D.F.

E.mail : acortesg@ipn.mx

E. mail: proyecto_ibq@yahoo.com.mx

RESUMEN

Nuestro país tiene una gran variedad de especies vegetales poco aprovechadas las cuales son aptas para el consumo humano como lo es el nopal y el xoconostle los. La justificación de este producto radica en que el estilo de vida moderno ha generado importantes cambios en los hábitos sociales y en las costumbres de alimentación. Uno de los ejemplos más notorios es la reducción en el consumo de fibra. Por tal motivo nos dimos a la tarea de desarrollar un postre similar a un dulce típico mexicano, a partir de una combinación fruta y verdura representativas de nuestro país aprovechando sus propiedades nutricionales. E Incluir al xoconostle en la formulación, dándole a este un aprovechamiento industrial que sea agradable al consumidor y mediante el uso de otras frutas y verduras lograr el aporte una cantidad importante de fibra para alcanzar la ingesta recomendada de la misma, y así obtener los diferentes beneficios que la misma nos aporta, además de dar un uso a nivel industrial de las diferentes materias primas los cuales son frutas y verduras en su mayoría poco consumidas en nuestro país y con gran potencial industrial.

La elaboración de nuestro producto se hizo en base de materias primas 100% naturales, el cual es un factor de impacto en el mercado.

Se desarrollo la formulación con una combinación de fruta-verdura previamente probada la cual presento previo a la elaboración del producto un grado de aceptación importante por parte de los consumidores. Para la formación del gel se utilizó pectina comercial de alto metoxilo. El contenido de azúcares se ajustó a una concentración en grados Brix estándar para este tipo de productos entre el 55% como mínimo y el 85% como máximo. El pH es otro parámetro importante en el proceso, por lo cual su valor se mantuvo entre 1 y 3,5. La técnica aplicada para la elaboración del postre tipo ate es una técnica tradicional la cual consiste en tener la pasta de frutas cocidas con azúcar, hasta que espesa.

Para conocer el grado de aceptación que del producto se aplico una prueba hedónica en el público consumidor, la cual demostró que el producto cumple con sus expectativas obteniéndose un porcentaje de aceptación del 80%.

INTRODUCCIÓN

México es un país con gran biodiversidad, el cual alberga una gran cantidad de especies de origen vegetal, aptas para consumo humano. Sin embargo hay un importante número de especies desaprovechadas industrialmente

El ate es una pasta de frutas cocidas con azúcar o piloncillo, que se toma como postre, para la confección tradicional del ate, la pulpa de fruta hecha puré se cuece con azúcar hasta que espesa, se enmolda y se deja enfriar.

En México el principal centro de su fabricación es la ciudad de Morelia, Michoacán; el Ate es ya una tradición muy arraigada en nuestro país; es por ello enfocamos esta trabajo hacia la elaboración de este producto.

Para la elaboración de este producto se desarrollo la siguiente combinación de fruta-verdura y destacamos la importancia de cada una.

Nopal: que ha representado, para los mexicanos, en su desarrollo histórico, uno de los elementos bióticos más relevantes y de mayor significado cultural, ya que se utiliza como alimento - ya sea como verdura o como fruto - bebida alcohólica, dulce, forraje, cerco vivo, producto industria, etc.

Xoconostle: representa, para los mexicanos, en su desarrollo histórico, uno de los elementos bióticos más relevantes y de mayor significado cultural. Dentro de los frutos llamados tunas, algunos son ácidos como el "Xoconostli" que significa en náhuatl

tuna agria y a la que se le ha encontrado un alto contenido de ácido ascórbico. Los xoconostles han sido un importante factor de sustento económico del campesino mexicano, quien los utiliza en su alimentación y como medicina alternativa, y desde el punto de vista ecológico por su resistencia a la sequía debido a su enorme adaptación a los cambios climáticos y su contribución a la formación de suelo.

Apio: Se ha utilizado desde tiempos históricos tanto en la cocina como en los boticarios. Ayuda al cuerpo a deshacerse de impurezas a través de su función diurética (por su contenido en un aceite volátil, el apiol).

Piña: en México la encontramos durante todo el año. Presenta una composición interesante de vitaminas y minerales, sin embargo su componente más significativo es la fibra. Esta fruta aporta 1,2 gramos de fibra por cada 100 gramos de porción comestible. Una cantidad considerable que convierte a la piña en un alimento idóneo, tanto para prevenir como para mejorar los síntomas del estreñimiento

Perejil: es un condimento muy habitual en nuestra dieta aporta beta-caroteno (en nuestro organismo se transforma en vitamina A conforme éste lo necesita), vitamina C y vitamina E en cantidades apreciables, así como determinados minerales (principalmente fósforo, hierro, calcio y azufre).

Sacarosa: Al ser un disacárido se utiliza por ser un compuesto estructural se utiliza en los productos cuya composición es a base de hidrocoloides como es el caso del ate, estas mezclas requieren cristales de azúcar para obtener su consistencia. **Pectina:** Las pectinas están compuestas fundamentalmente por largas cadenas formadas por unidades de ácido galacturónico, que puede encontrarse como tal ácido, con el grupo carboxilo libre, o bien o con el carboxilo esterificado por metanol (metoxilado). Las formas de pectina son generalmente reconocidas como seguras por la FDA

Geles de pectina de alto metoxilo

La primera condición para obtener geles de pectina de alto metoxilo es que el pH sea bajo para que los grupos ácidos, minoritarios, se encuentren fundamentalmente en forma no ionizada, y no existan repulsiones entre cargas. A pH 3,5, aproximadamente la mitad de los grupos carboxilo del ácido galacturónico se encuentran ionizados, pero por debajo de pH 2 el porcentaje es ya muy pequeño. Las cadenas de pectinas de alto metoxilo pueden entonces unirse a través de interacciones hidrofóbicas de los grupos metoxilo o mediante puentes de hidrógeno, incluidos los de los grupos ácidos no ionizados, siempre que exista un material muy hidrófilo (azúcar) que retire el a agua. En consecuencia, las pectinas de alto metoxilo formarán geles a pH entre 1 y 3,5, con contenidos de azúcar entre el 55% como mínimo y el 85%.

Para cada tipo de pectina con un grado de metoxilación concreto existe una combinación óptima de concentración de azúcar y pH, aunque se pueden obtener geles dentro de un cierto rango de pH.

Consumo de fibra

La fibra tiene muchos usos en el cuerpo., le agrega volumen a nuestra dieta. Esto se debe principalmente a su capacidad para absorber una importante cantidad de agua. En consecuencia, el producto final de la digestión, se torna más voluminosa y suave, debido a que se encuentra más hidratada.

Los efectos que tiene la dieta en el riesgo de cáncer del colon aún están siendo estudiados por los científicos. Consumir alimentos que contienen fibra puede ayudar a mantener saludable su tracto digestivo.

Actualmente se otorga gran importancia al papel que tiene el consumo de fibra en el manejo de algunas de las enfermedades más frecuentes en el mundo: la obesidad y algunos trastornos de grasas (lípidos).

Además, el aumento de tamaño del bolo fecal estimula el tránsito intestinal, lo que reduce su tiempo de permanencia en el aparato digestivo, a la vez que ayuda a regular los movimientos intestinales, evitando el estreñimiento. También puede reducir nuestro riesgo de enfermedades intestinales como el cáncer del colon, diverticulosis y síndrome de defecación irritable. La fibra puede ayudar a combatir el colesterol sanguíneo elevado. Ciertos tipos de fibra parecen eliminar el exceso de colesterol del cuerpo. Esto puede ayudar a prevenir las enfermedades del corazón en algunas personas.

MATERIALES Y METODOS

Materiales

Se utilizó nopal, piña, apio, xoconostle, perejil adquiridos en el mercado local., sacarosa (azúcar refinada convencional), Pectina cítrica 145° Sacarosa y ácido cítrico, material propia de laboratorio y planta piloto de frutas y hortalizas. Se desarrolló una formulación (Cuadro 1) con una combinación fruta-verdura que tuviera un nivel de agradable aceptable, sin la adición de saborizantes y colorantes artificiales para que el gel tuviera características naturales.

Cuadro 1: Formulación porcentual de postre tipo ate

Ingrediente	%
Azúcar	56
Piña	17
Nopal	11
Apio	8
Xoconostle	6
Perejil	2

El pH normal de la mezcla de fruta-verdura sin la adición de ácido fue de 3.5 por lo cual el ajuste de acidez fue mínima. A continuación se presenta en la Figura 1 un diagrama de bloques general en el cual se indican los diferentes procesos empleados en la elaboración del postre tipo ate. Se aplicó una técnica convencional en la elaboración de este tipo de postre.

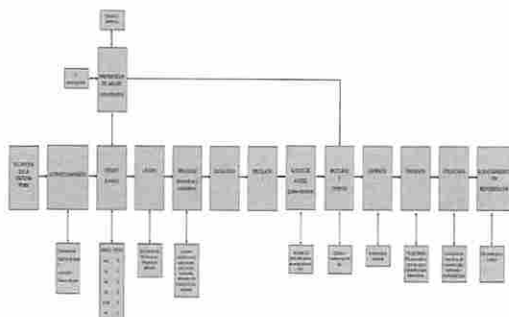


Figura 1. Diagrama de bloques para la elaboración del producto.

La técnica aplicada para la elaboración del postre tipo ate es una técnica tradicional la cual consiste en tener la pasta de frutas cocidas con azúcar, hasta que espesa, se enmolda y se deja enfriar.

Ya establecida la formulación y procesamiento del producto se obtuvo la composición proximal del postre tipo ate la cual se indica en el cuadro 2.

Cuadro 2: Composición química proximal del producto referida a 100g de porción comestible.

Energía	223.43	Kcal
Hidratos de carbono	59.086	g
Proteína	0.227	g
Lípidos	0.1366	g
Fibra dietaria	4.98	g
Calcio	30.76	mg
Sodio	8.55	mg

Se realizó una prueba hedónica a 100 personas, que se presenta en la Figura 2 en donde se evaluaron atributos como color, olor,

textura y sabor obteniendo un nivel de aceptación cercano a 80%, donde una evaluación de 1 corresponde a un nivel de poco agrado hasta 7 el cual es el máximo nivel de agrado de cada uno de los atributos.



Figura 2. Evaluación sensorial del postre tipo ate

No se utilizan conservadores ya que al presentar alta concentración de azúcar (70%) la actividad de agua del producto es mínima, esto aunado con la acidez que presenta el producto garantiza una vida de anaquel de aproximadamente dos meses en refrigeración.

Es importante también considerar el tipo de empaque y presentación que se dará al producto, considerando que es un gel y que se manejan temperaturas elevadas en su procesamiento es necesario un empaque atractivo y resistente, pero además que resulte práctico para el comprador, por ello para la elección correcta de los envases se tiene en cuenta, factores tanto económicos como técnicos.

En la Figura 3 se muestra una imagen de los envases empleados.

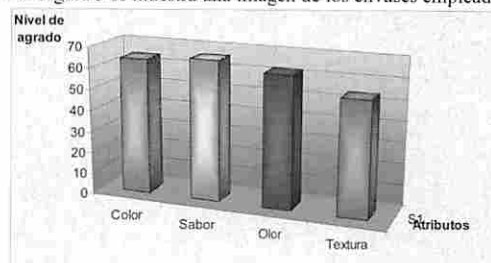


Figura 3. Presentaciones del Envase empleado

RESULTADOS

Se obtuvo un postre tipo ate con un buen nivel de aceptación, del 80% lo cual muestra que este producto podría ser una buena alternativa al consumo de fibra en una presentación nueva y diferente con ciertas reservas debido a que su alto contenido de azúcar lo hace un postre poco apto para personas que no puedan consumir azúcar.

En cuanto a las características físicas del producto la rigidez que presenta el producto hecho a base de una combinación fruta-verdura fue menor a la convencional ya que por excelencia un ate convencional se elaboran con frutos como perón membrillo y guayaba que son frutas que en forma natural contienen pH entre 2.8 y 3.6 además de que tienen alto contenido de pectina lo que le confiere dicha propiedad. Es por ello que se requirió adición del ácido cítrico y pectina para obtener una consistencia lo más parecida a un ate convencional.

Se evaluaron las características sensoriales del producto las cuales tuvieron un buen nivel de aceptabilidad por parte de los evaluadores.

BIBLIOGRAFIA

- Bravo H. H. 1978. Las cactáceas de México. Vol. 1 Universidad Nacional Autónoma de México. México, DF.
- Curiel Montegudo, La dulcería Mexicana Historia, Ciencia y Tecnología. Ed. Limusa Noriega Editores.
- Laboratorio de Alimentos I, Centro de Investigaciones Químicas Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, UAEM.
- Scheinvar L., Filardo K. S. & Olalde P. G. En prensa. Diez Especies
- Southgate D. 1992. Conservación de frutas y hortalizas. 3ra edición Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.
- www.fao.org

ELABORACIÓN DE UNA PANELA EN BLOQUE A NIVEL DE PLANTA PILOTO Y EVALUACIÓN DE SU CALIDAD

Mujica, María Virginia^{1*}, Guerra, Marisa¹ y Magaly Lira²

¹ Departamento de Tecnología de Procesos Biológicos y Bioquímicos. Universidad Simón Bolívar, Apartado 89.000. Caracas 1080, Venezuela. e-mail: mvmujica@ucla.edu.ve, mguerra@usb.ve

² Fundación Centro de Investigaciones del Estado para la Producción Experimental Agroindustrial, San Felipe, Venezuela.

Palabras Claves: Procesamiento de alimentos y de subproductos, panela, caña de azúcar, planta piloto.

RESUMEN

La panela es un edulcorante natural elaborado artesanalmente a partir de la caña de azúcar. En el estudio realizado, se evaluaron las propiedades físicas y químicas de una panela en bloque producida a nivel de planta piloto. Para ello, se determinó el contenido de humedad (8,92%), proteínas (1,76% bs) cenizas (1,43% bs) azúcares reductores (11,78% bs), azúcares totales (97,06% bs), sacarosa (81,01% bs), actividad de agua (0,713 a 29,8°C), pH (6,06), sólidos solubles totales (93,1 °Brix), sólidos insolubles (0,92% bs), color (74,4% transmitancia a 550 nm) y turbidez (29,9% transmitancia a 720 nm). La panela elaborada cumplió con lo establecido en la norma técnica colombiana NTC 1311 (1991) para proteína, cenizas, azúcares reductores, sacarosa y color. También se analizó el contenido de minerales, siendo el potasio el de mayor concentración (1047,33 mg/ 100 g) y evidenciando la ventaja nutricional de la panela con respecto al azúcar refinado. Los resultados generados pueden utilizarse en la tabla de composición de alimentos de Venezuela y en la base de datos de la FAO para la composición de alimentos latinoamericanos.

INTRODUCCIÓN

La panela es un edulcorante natural obtenido por concentración del jugo de la caña de azúcar en establecimientos denominados trapiches o centrales paneleros, y presentado bajo distintas formas. Este producto se caracteriza por su alta concentración de azúcares, contenido de minerales y trazas de vitaminas (Hernández y Amaya, 2000). Para Kumar y Tiwari (2005) es un azúcar integral, no refinado y sin aditivos químicos, que posee un gran valor nutricional y medicinal.

En Venezuela se conoce principalmente la panela en bloque, cuadrada y cónica (papelón), y recientemente han incursionado en el mercado la presentación granulada y los panelines (pequeños bloques), por influencia de las tendencias en el mercado colombiano. La panela recibe diversas denominaciones; "gur" y "jaggery" en la India y Pakistán, "rapadura" en Brasil, "chancaca" en Chile, Perú y Argentina; "panela" en Venezuela, Colombia, Ecuador, Guatemala y otros países de Centroamérica, y "panela" o "piloncillo" en México. La FAO (2006) la registra en sus estadísticas como azúcar no centrifugado.

La fabricación de panela a nivel mundial representa una agroindustria rural tradicional, y artesanal en la mayoría de los casos, caracterizada por una producción poco organizada y que utiliza métodos rudimentarios, en la cual no se controlan las condiciones de proceso ni las características del producto terminado (Hernández y col., 2000; Pawar y Dongare, 2001).

Actualmente se presenta una oportunidad para el resurgimiento del consumo de panela, dado que las tendencias mundiales se orientan hacia la búsqueda de alimentos más naturales y con bajo grado de industrialización. Para ello, es necesario que esta agroindustria evolucione y se adapte a las exigencias de los consumidores, siendo capaz de ofrecer un producto homogéneo obtenido bajo un proceso controlado y reproducible en el que se apliquen las buenas prácticas de manufactura.

En base a lo anteriormente mencionado, el objetivo de esta investigación fue elaborar una panela en bloque a nivel de planta piloto y evaluar su calidad. Para la fabricación de la panela se utilizó el esquema experimental desarrollado por la Fundación CIEPE.

MATERIALES Y MÉTODOS

Proceso de elaboración

En la Figura 1 se indica el diagrama de proceso para la elaboración de la panela en bloque, se utilizó una solución de óxido de calcio (lechada de cal) como clarificante y mucílago de guásimo (*Guazuma ulmifolia* L) como agente floculante, ambos se adicionaron en dos partes durante la etapa de clarificación a fin de remover la cachaza negra (impurezas de mayor tamaño como tierra y bagacillo) y la blanca (impurezas floculadas). La variedad de caña utilizada fue Barbados con 10 meses de edad.

Caracterización física y química

Humedad, proteínas, cenizas, azúcares reductores, azúcares totales y sacarosa: Se cuantificaron utilizando métodos oficiales de la AOAC (1990) para azúcares y productos azucarados. Los resultados se reportaron en base seca (bs) en g/100 g de muestra, excepto para humedad. **Minerales:** se cuantificó K, Ca, P, Mg, Fe y Mn, con un equipo de emisión atómica con plasma acoplado inducido (ICP, GBC Integra XL). Previamente se preparó la solución de cenizas. **Actividad de agua (a_w):** se determinó con el equipo Decagon CX-2 de AquaLab, el cual emplea un método psicrométrico. **pH y sólidos solubles totales (SST):** se cuantificaron mediante el método de Prada (2002) modificado. El pH se midió en una solución al 10% p/p, a temperatura ambiente. Los SST se corrigieron a 20 °C. **Sólidos insolubles:** se empleó el método de Prada (2002) modificado, basado en la filtración de una solución de la muestra a través de una membrana de 0,45µm. **Color:** se utilizó el método recomendado por la Norma Técnica Colombiana NTC 1311 (1991), basado en la medición de la transmitancia (T) a 550 nm de una solución al 5% p/v bs. **Turbidez:** el análisis se realizó mediante una versión modificada del método de Prada (2002), midiendo la transmitancia a 720 nm de una solución al 5% p/v bs. **Análisis Estadístico:** Los resultados de los análisis físicos y químicos, realizados por triplicado, se expresaron con la media y su desviación estándar.

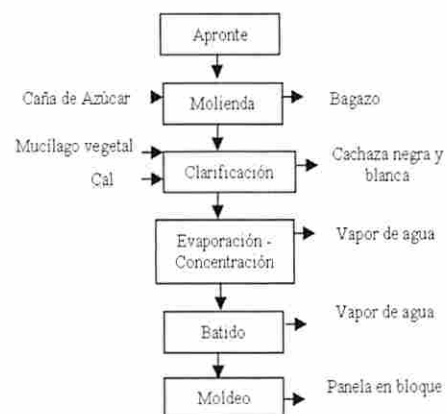


Figura 1. Diagrama del proceso de elaboración de panela.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido de humedad en la panela (Tabla 1) se encontró dentro del rango reportado por Patil y col. (1994) para diferentes variedades de caña hindúes con 10 meses de edad, entre 6,85 y 10,40 g/100g. Asimismo Patil y col. (1998),

quienes clasifican la panela en "especial", grado "A" y grado "B", especifican que la de grado "B" posee entre 8,1 y 10,0% de humedad.

En Suramérica, sólo Colombia y Ecuador poseen normas técnicas para la panela. La muestra elaborada en planta piloto cumplió con lo fijado en la norma colombiana (NTC 1311, 1991) para el contenido de proteína (mín. 0,2%), cenizas (0,8-1,9%), azúcares reductores (5,5-12,0%) y sacarosa (73-83%). No obstante, los azúcares reductores resultaron muy próximos al límite máximo, lo cual puede afectar la textura y la estabilidad microbiológica de la panela, al incrementar su higroscopicidad.

Tabla 1. Contenido de humedad, proteína, cenizas, azúcares reductores, azúcares totales y sacarosa (g/ 100g bs) de la panela experimental.

Humedad	8,92 ± 0,04
Proteína	1,76 ± 0,10
Cenizas	1,43 ± 0,01
Azúcares reductores	11,78 ± 0,05
Azúcares totales	97,06 ± 1,33
Sacarosa	81,01 ± 1,29

En la Tabla 2 se muestran datos reportados en la literatura para las propiedades físicas y químicas de panelas en bloque, se puede observar que el contenido de humedad, cenizas y sacarosa se encuentran dentro de los rangos reportados, mientras que la proteína y los azúcares reductores son superiores. Sin embargo, la composición de la panela puede ser afectada por distintos factores agroecológicos (variedad de caña, clima, tipo de suelo y manejo agronómico, entre otros) y de proceso.

Tabla 2. Valores de humedad, proteína, cenizas, azúcares reductores y sacarosa para panelas en bloque, reportados en la literatura (en %).

Referencia	H	P	C	AR	S
TCAC (INCAP, 2006)	7,4	0,4	1,1	-	-
TCAAL(FAO, 2002)	12,3	0,5	1,1	-	-
TCAI (CNAN, 2002)	5,9	1,1	2,1		
Uppal y col. (2002)	10,83	-	-	1,73	92,23
Tiwary y Chatterje (1998)	4,3	-	3,0	8,1	75,19

TCAC: Tabla de composición de alimentos para Centroamérica. TCAAL: Tabla de composición de alimentos de América Latina. TCAI: Tabla de composición de alimentos industrializados. H: humedad, P: proteína, C: cenizas, AR: azúcares reductores y S: sacarosa.

El potasio fue el mineral más abundante (Tabla 3) en la panela evaluada, lo cual era de esperarse, ya que también es el de mayor concentración en el jugo de caña, llegando a representar hasta un 60% de su contenido de cenizas (Chen, 1991). En la TCAAL (FAO, 2002) se reporta un contenido de K, Ca, P y Fe, igual a 900, 65, 64 y 5,5 mg/100g, respectivamente, en panelas ecuatorianas, mientras que con respecto a Colombia sólo reporta Ca, P y Fe, igual a 80, 60 y 2,4 mg/ 100g, respectivamente. La composición de las panelas venezolanas no aparece reflejada en la TCAAL, no obstante Hernández y col. (2000) reportan el contenido promedio de K, Ca, P, Mg, Fe y Mn (1430, 286, 98, 335, 22 y 1,61 mg/100 g, respectivamente) en un conjunto de panelas artesanales.

Tabla 3. Contenido de minerales (mg/ 100 g bs) de la panela experimental.

Potasio	1047,33±1,80
Calcio	186,41±1,74
Fósforo	20,82±0,95
Magnesio	213,24±0,96
Hierro	5,22±0,70
Manganeso	0,12±0,01

El a_w (Tabla 4) de la panela producida en planta piloto es favorable para el crecimiento de levaduras y mohos, y

coincide con la elevada humedad encontrada, sugiriendo la necesidad de implementar una etapa de secado en el proceso.

Tabla 4. Actividad de agua, pH, SST, sólidos insolubles, color y turbidez de la panela experimental.

a_w^a	0,713 ± 0,001
pH (sol. al 10% p/p)	6,06 ± 0,01
SST (°Brix)	93,1 ± 0,5
Sólidos insolubles (g/100g bs)	0,92 ± 0,11
Color (% T a 550 nm)	74,4 ± 0,0
Turbidez (% T a 720 nm)	29,9 ± 0,1

^a: se midió a 29,8 °C.

Hernández y col. (2000) reportaron un pH promedio igual a 6,21 (sol. al 10% p/p) en panelas venezolanas artesanales, mientras que para panelas colombianas es de 5,95, según el CIMPA (1989), valores muy cercanos al obtenido para la panela elaborada. En cuanto a los SST, estos se encontraron acordes con la humedad de la muestra.

La norma técnica colombiana NTC 1311 (1991) clasifica la panela de acuerdo al contenido de sólidos insolubles en "extra" (máximo 0,1%), "primera" (máximo 0,5%) y "segunda" (máximo 1,0%), por lo cual el producto elaborado puede clasificarse como de segunda. Se revela así la necesidad de mejorar la clarificación del jugo de caña, puesto que los sólidos insolubles representan un parámetro de calidad importante, principalmente si la panela se destina a la elaboración de bebidas.

El color de la panela producida en planta piloto estuvo dentro del rango fijado por la norma colombiana (NTC 1311, 1996), de 30 a 85% T a 550 nm. La turbidez de la solución de panela fue alta si se le compara con la turbidez promedio reportada por Hernández y col. (2000), igual a 50,65% a 720 nm.

CONCLUSIONES

A pesar de que la panela producida en planta piloto cumplió con lo establecido en la norma colombiana, es necesario ajustar el proceso experimental, principalmente en lo relacionado con la humedad y el contenido de sólidos insolubles. Adicionalmente, los resultados generados pudieran utilizarse en la tabla de composición de alimentos de Venezuela y en la base de datos de la FAO LATINFOODS.

AGRADECIMIENTO

Al Decanato de Postgrado de la USB y al FONACIT (Proyecto 2000001555) por el financiamiento aportado para esta investigación, y a la Fundación CIEPE por facilitarnos el uso del central panelero experimental.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

-AOAC. 1990. Official Methods of Analysis of the AOAC. 15th Ed. Washington. pp 1010-1033.
 -Chen J. 1991. Manual del Azúcar de Caña. (Trad. de la 11a. ed. en Ingles). Editoria. Limusa, México. pp. 61-62.
 -CIMPA. 1989. Determinación de la composición físico-química de la panela. Región Hoya del Río Suárez. Convenio ICA-Holanda. Barbosa, Colombia.
 -CNAN. 2002. Tabla de composición de alimentos industrializados. Lima. p.10.
 -FAO. 2002. Tabla de composición de alimentos de América latina. Disponible en <http://www.rlc.fao.org/bases/alimento>.
 -FAO. 2006. Faostat: producción de caña de azúcar y de azúcar no centrifugado.
 -Hernández E y Amaya F. 2000. Referencial tecnológica para el proceso de obtención de panela de calidad. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas Venezuela.
 -INCAP. 2000. Tabla de composición de alimentos de Centroamérica. Panela c rapadura: código 15027. Guatemala.
 -NTC 1311. 1991. Norma Técnica: Productos Agrícolas. Panela. 2ª Actualización. ICONTEC. Colombia.
 -Patil J, Wandre S, More N, Jadhav H y Habsanis A. 1994. Influence of different varieties and harvesting stages of sugarcane on quality of jaggery. Cooperative sugar 25 (9&10): 377-380.
 -Patil J y Adshule P. 1998. Studies on various quality parameters for grading of jaggery. Indian Food Industry. 17(4):215-217.
 -Pawar S and Dongare M. 2001. Scientific Studies on Jaggery manufacturing process. Cooperative Sugar. 32(5):369-374.
 -Prada L. 2002. Mejoramiento de la calidad de la panela a través del sistema de limpieza de jugos para pequeños y medianos productores. CORPOICA. CIMPA. Colombia.
 -Tiware G, Sanjeev K y Prakash O. 2004. Evaluation of convective mass transfer coefficient during drying of jaggery. Journal of Food Engineering 63: 219-227.
 -Uppal S, Sharma S y Sidhu G. 2002. Effect of storage temperature on jaggery ('gur') quality of different sugarcane varieties. Journal of Food Science Technology. 39 (5): 549-551.

ESTUDIO DEL EFECTO DEL PROCESO DE DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA EN LA OBTENCIÓN DE TROZOS SECOS DE CARAMBOLA (Averroha carambola L.)

Castillo Ortiz María Eugenia Ing., Cornejo Zúñiga Fabiola M. Sc.
 Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción
 Escuela Superior Politécnica del Litoral
 Campus Gustavo Galindo Velasco, Km. 30.5 Vía Perimetral, Apartado: 09-01-5863, Guayaquil,
 Ecuador.
 mcastill@espol.edu.ec , fcornejo@espol.edu.ec

Palabras Claves: Deshidratación osmótica, secado, isoterma de adsorción, carambola.

RESUMEN

En el presente trabajo se estudio el efecto del proceso de Deshidratación Osmótica en la obtención de trozos secos de carambola. Los experimentos realizados sirvieron para establecer la cinética de deshidratación osmótica a 3 concentraciones de sacarosa (40 °Brix, 50°Brix y 60°Brix) y a presión atmosférica. Demostrándose que a 50°Brix se obtiene el menor coeficiente de difusión de sólidos y una considerable pérdida de agua. Por otro lado, que el aplicar deshidratación osmótica produce un aumento de la difusión de agua durante el secado disminuyendo por ende el tiempo de proceso. Además, se observó un aumento de la monocapa de BET indicando una mayor estabilidad y una mejor calidad sensorial que el alimento con el secado convencional.

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente la industrialización de frutas en nuestro país está limitada hacia la elaboración de jugos, néctares o concentrados. Es importante, por lo tanto desarrollar tecnologías que permitan ampliar la gama de productos que el Ecuador ofrece a mercados internacionales utilizando frutas tradicionales y no tradicionales. La carambola o comúnmente llamada grosella china, es una fruta exótica, que tiene una gran demanda en los mercados internacionales por su sabor y apariencia.

En países latinoamericanos, por medio del programa CYTED, se han desarrollado nuevos productos aplicando procesos de deshidratación osmótica y secado [1]. La deshidratación osmótica (DO) como pre-tratamiento es un proceso que mejora las características organolépticas de los productos secos [2]. En efecto, la Deshidratación Osmótica es una técnica que permite reducir el contenido de humedad e incrementar el contenido de sólidos solubles en las frutas, mediante la inmersión de esta en solución acuosa de alta concentración de soluto. La deshidratación se debe a que ocurre un proceso de osmosis entre la fruta y la solución concentrada. El agua se traslada desde la disolución menos concentrada en soluto (alimento) hacia la más concentrada (solución hipertónica), de tal manera que las concentraciones tienden a igualarse [2,3]. Existen varios factores (temperatura, concentración de solución osmótica, etc.) que ejercen influencia sobre los fenómenos de transferencia de masa en el proceso de deshidratación osmótica.

Por lo tanto en el presente trabajo se estudia la cinética de Deshidratación Osmótica y su efecto en el secado convencional de tal manera que se definan los parámetros adecuados para la obtención de trozos secos de carambola tratados osmóticamente.

2. MATERIALES Y MÉTODOS.

2.1. Materia Prima.

Carambolas de la variedad dulce fueron dotadas por la Misión Técnica Agrícola de Taiwán en Ecuador. Las características fisicoquímicas de las carambolas fueron 10 \pm 1°Brix, textura firme y color 387C según el especificador pantone. La sacarosa (azúcar comercial) fue obtenida de los supermercados locales.

2.2 Métodos

2.2.1. Isotermas de Sorción: Se realizaron isotermas de la fruta fresca y la fruta deshidratada osmóticamente y secada. Los dos tipos de isotermas se construyeron por duplicado usando el método gravimétrico a temperatura constante de 32 \pm 2°C. [4]. Las isotermas fueron ajustadas a través del modelo matemático de GAB y el programa Origin 6. El valor de la monocapa fue determinado por medio del modelo matemático BET.

2.2.2. Deshidratación osmótica: El proceso experimental de Deshidratación Osmótica (DO) se muestra en la figura 1. Este proceso consistió en registrar cada 10 minutos, durante las primeras 2 horas, la pérdida de peso, ganancia de sólidos solubles y la pérdida de espesor y cada 30 minutos durante las siguientes 2 horas [2]. Para el análisis de la cinética de deshidratación osmótica se utilizaron 3 concentraciones de sacarosa (40, 50 y 60 °Brix). Los experimentos fueron realizados por replica y duplicado. El análisis de la cinética de deshidratación osmótica permitió decidir la concentración de jarabe de sacarosa idónea para el proceso [2].

2.2.3. Secado: En el proceso de secado se operó con una velocidad de aire de 4 m/s, temperatura de 65 \pm 5 °C, tanto para los trozos de carambola sin y con tratamiento osmótico. En la figura 2 se esquematiza el proceso experimental. Los resultados obtenidos de la experimentación fueron de utilidad para realizar las curvas de secado y analizar el comportamiento del coeficiente de difusión de agua tanto en el secado convencional como en el secado con tratamiento osmótico [5].

2.2.4. Análisis Sensorial: Se realizó un panel sensorial que indicó el grado de satisfacción que provoca en los consumidores los trozos secos de carambola deshidratados osmóticamente. Para el efecto se realizó escala hedónica de 5 puntos. Los resultados fueron analizados estadísticamente con el programa Anova. [6]

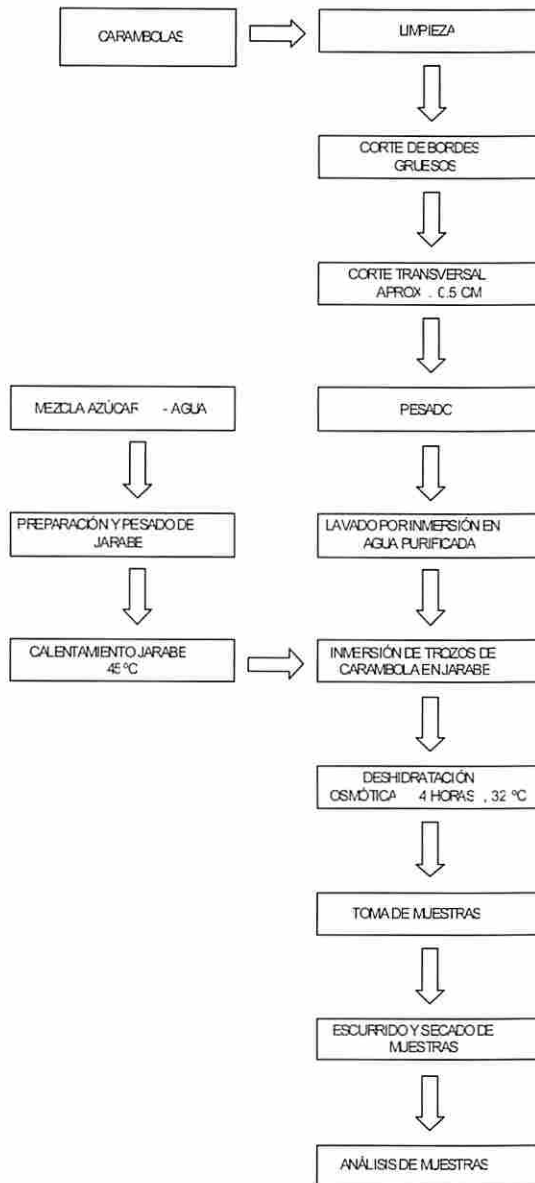


Figura 1. Proceso de Deshidratación Osmótica

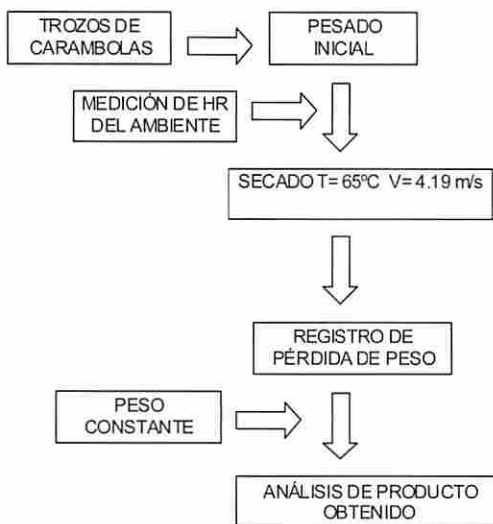


Figura 2. Esquema general del proceso experimental de secado.

3. ANÁLISIS DE RESULTADOS.

3.1. Análisis de Las Isotermas Obtenida:

Las isotermas de la carambola fresca y la carambola deshidratada osmóticamente se muestran en la figura 3. A simple vista se observa que el proceso de deshidratación osmótica produce una mayor unión de las moléculas de agua a la estructura del alimento, originando que la curva sigmoidal se eleve. Esto puede ser comprobado con el valor de la monocapa de BET.

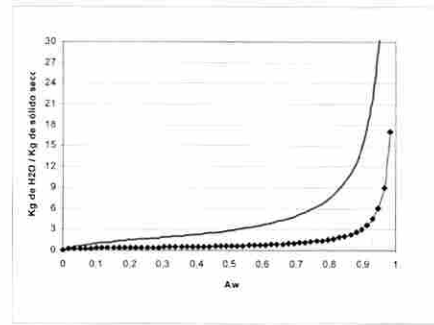


Figura 3. Isotherma de sorción de carambolas sin deshidratación osmótica (línea punteada) y con deshidratación osmótica.

El valor de la monocapa es el contenido de humedad que forma la primera capa de agua en contacto con las moléculas de la estructura del alimento. Por lo tanto, este valor presenta una íntima relación con la estabilidad del producto. El valor de la monocapa ($a_w = 0.3$) obtenido para la fruta fresca fue de 0.3229 g de agua /100g de sólidos secos y para la carambola tratada osmóticamente fue de 1.5417 g de agua /100g de sólidos secos. Estos valores demuestran claramente la influencia de la deshidratación osmótica en la estabilidad y características del producto final. Mientras mayor es el valor de la monocapa mayor es la estabilidad debido a que más moléculas de agua pueden estar unidas al alimento sin que estén disponibles para las reacciones de deterioro. Además el mayor contenido de agua incrementa la plasticidad de la fruta mejorando la textura de la misma.

3.2. Cinética de la Deshidratación Osmótica:

En la figura 4 se muestra la cantidad de pérdida de agua de la carambola deshidratada osmóticamente en soluciones de sacarosa a 40, 50 y 60°Brix. El experimento realizado a 60° Brix es el que presenta las mayores pérdidas de agua. Se puede determinar que mientras más alta es la concentración del jarabe de sacarosa mayor es la pérdida de agua en la fruta; aunque este aumento de la pérdida de agua también se ve afectado por el incremento de la temperatura; tal como lo han demostrado estudios realizados con otras frutas [7].

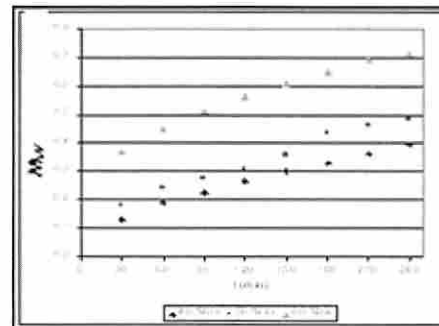


Figura 4. Pérdida de agua de los diferentes experimentos

Por otro lado, durante la deshidratación osmótica también existe una migración de sólidos hacia la fruta. Considerando que la finalidad de la deshidratación osmótica se basa en una remoción de agua con la menor entrada de solutos al alimento, es importante establecer la concentración de sacarosa que genere un menor incremento de sólidos de los trozos de carambola. (Figura 5)

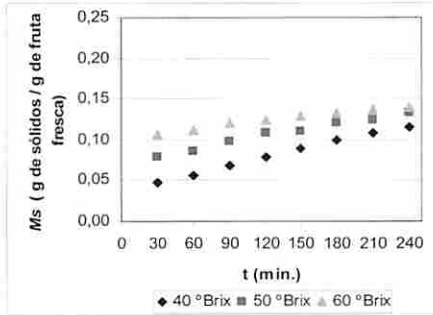


Figura 5. Ganancia de sólidos para los experimentos a diferentes concentraciones de sacarosa.

Del experimento realizado se deduce que a la concentración de 60 °Brix se logra una mayor incorporación de sólidos. Realizando la comparación con las otras concentraciones, se puede afirmar que mientras mayor es la concentración del jarabe de sacarosa, mayor será el incremento de sólidos en la fruta. Cabe acotar que no existió diferencia significativa en el incremento de sólidos entre las concentraciones de sacarosa de 60 °Brix y 50 °Brix; sin embargo sensorialmente a la concentración de 60 °Brix el sabor del trozo de fruta era muy fuerte, tornándose desagradable al paladar. Lo cual se lo demuestra en el análisis del coeficiente de difusión de sólidos (Ks).

La determinación de los coeficientes globales de transferencia de masa, ayuda en gran manera a la selección adecuada de la concentración de solución osmótica a utilizar en el proceso de tratamiento osmótico, ya que, establecen la dificultad para el transporte de un determinado componente entre dos fases inmiscibles. Los valores de los coeficientes de transferencia de agua (Kw) y sólidos (Ks) se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Coeficientes de difusión de agua y sólidos para las diferentes concentraciones de experimentación.

Soluciones osmóticas	k_w	k_{sg}
40	0.0316	0.0726
50	0.0347	0.0685
60	0.0478	0.0783

En lo que se refiere a los coeficientes de difusión de sólidos, lo que se busca es el que ofrezca mayor resistencia a la difusión de sólidos, por lo tanto conviene el menor coeficiente (K_{SG}), siendo este el proceso realizado a la concentración de 50 °Brix. Luego de los análisis realizados, se toma la decisión de escoger la concentración de 50 °Brix de solución osmótica para el proceso de deshidratación osmótica previo al secado convencional.

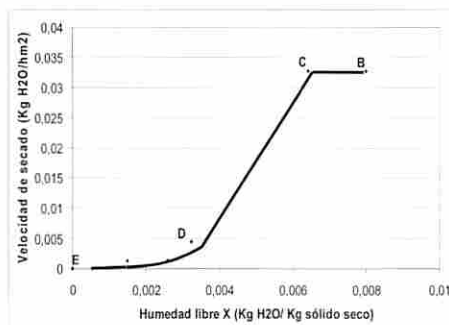


Figura 6. Curva de velocidad de secado en función de humedad libre para secado convencional de trozos de carambola.

3.3. Efecto de la Deshidratación Osmótica en el Secado Convencional.

Con el interés de conocer la influencia del tratamiento osmótico previo al secado convencional de la fruta, se realizó la determinación de la velocidad de secado [5] tanto para muestras de carambola secadas convencionalmente como para

muestras de la fruta tratadas osmóticamente previo al secado convencional. (Figura 6 y 7)

Con las gráficas de velocidad de secado (figura 6 y 7) se deduce que para el secado convencional de las muestras de carambola el periodo de velocidad constante (BC) es menor en comparación con el de las muestras tratadas osmóticamente. Este se puede explicar debido a que la presencia de azúcar produce una migración del agua hacia la superficie del sólido produciendo el aumento del agua menos ligada en la fruta. Mientras que, para el periodo decreciente (CD) la pendiente para el proceso de secado con las muestras tratadas osmóticamente es mayor en comparación con la del secado convencional, por ende las muestras tratadas osmóticamente tendrán mayor velocidad de secado en este periodo de la curva. En el periodo (D) analizado en las dos gráficas, se observa la disminución de la velocidad de secado con mayor rapidez hasta llegar al punto E; donde el contenido de humedad de equilibrio es cercano a 0.

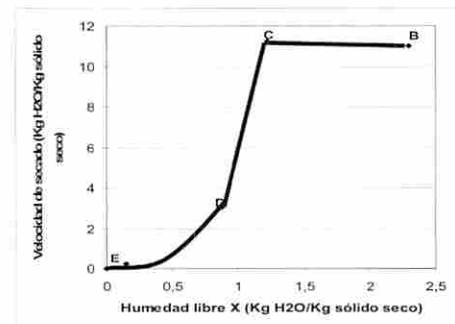


Figura 7. Curva de velocidad de secado en función de humedad libre para secado de trozos de carambola tratados osmóticamente.

Esto se debe a las diferentes formas de ligar el agua; en las que existen uniones fuertes y débiles; éstas últimas son más fáciles de romper facilitando la salida del agua libre de la superficie de la fruta. Lo cual se demuestra a través de la determinación del coeficiente de difusión del agua. En la tabla 2 se observan los coeficientes de difusión del agua para los dos procesos; en donde se observa que el secado de las muestras con tratamiento osmótico es mayor (K_w), es decir, que posee menos resistencia a la difusión del agua que el secado convencional. Disminuyendo así la velocidad de secado.

Tabla 2 Coeficientes de difusión de agua para secado convencional y secado de trozos de carambola tratados osmóticamente

Procesos de Secado	K_w	R^2
Secado Convencional de trozos de carambola	0.0565	0.8665
Secado de trozos de carambola tratados osmóticamente	0.0613	0.7827

En la figura 8 se observan los trozos de carambola secos obtenidos sin tratamiento osmótico así como también los que se obtuvieron tras el tratamiento osmótico previo al secado convencional. Obteniendo una diferencia significativa en cuanto a color, textura y sabor.

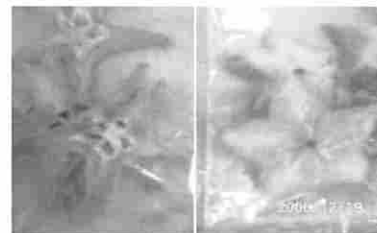


Figura 8 Trozos secos de carambola sin tratamiento osmótico y con tratamiento osmótico

Por otro lado, se realizaron pruebas sensoriales de nivel de agrado para medir el grado de satisfacción al degustar los trozos secos de carambola tratados osmóticamente. En el cual se utiliza la escala hedónica para calificar el grado de

satisfacción global de la muestra, y se incluye una sección para que los jueces expresen sus comentarios, tal como lo propuso Larmond, 1977. En la figura 8 se muestra el diagrama de pareto, el mismo que permite visualizar los resultados obtenidos de la evaluación realizada a los panelistas.

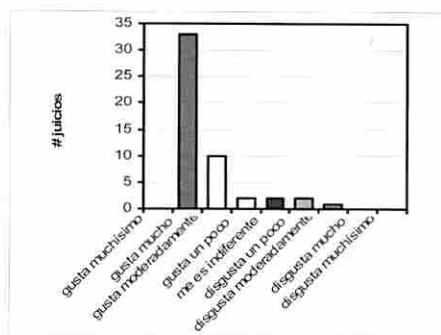


Figura 9. Diagrama de pareto de los resultados obtenidos.

Analizando la figura 9 se puede indicar que la mayor parte de la población enmarcó el producto presentado con la puntuación verbal << me gusta mucho >> correspondiente en la escala hedónica a un puntaje de 8. Con lo cual se puede inferir que el producto tendrá aceptación en el mercado, ya que se encuentra dentro del rango del agrado.

4. CONCLUSIONES.

Este estudio ha demostrado que la deshidratación osmótica produce un incremento en la velocidad de transferencia de agua durante el proceso de secado. Además que al tener un mayor valor de monocapa permite obtener un producto más estable y con mejores características organolépticas.

5. BIBLIOGRAFÍA.

- [1] Aguilera, J.; Chirife, J.; Tapia, M. Welti, J Y Parada, E. Inventario de alimentos de humedad intermedia tradicionales de Iberoamérica, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología. Instituto Politécnico Nacional, México, 1990.
- [2] Barboza G; Vega H, Deshidratación de Alimentos, Editorial Acribia S.A., Zaragoza – España, 2000, Págs. 27- 35, 130 – 135.
- [3] Torreggiani D., “Technological aspects of osmotic dehydration in Foods”, In: Barbosa- Canovas G., Welti-Chanes J, Editors. Food preservation by moisture control. Fundamentals and applications Lancaster 1996, pp. 281 - 294
- [4] Labuza T., Moisture Sorption: Practical Aspects of Isotherm Measurement and Use, American Association of Cereal Chemists, Minesota – USA, 1984, Págs. 8 – 12, 22 – 38.
- [5] Geancopolis C.; Procesos de transporte y operaciones unitarias, Tercera Edición, Editorial Continental S.A., México D.F -México, 1998, Págs. 33-43, 579 – 628.
- [6] Anzaldúa A, La Evaluación Sensorial de los Alimentos, Editorial Acribia S.A., Zaragoza – España, 1994, Págs. 67 – 75.
- [7] Salvatori D., Andrés A., Albors A., Chirlat A., Fito P., Structural and Compositional Profiles in Osmotically Deshidrated Apple. Journal of Food Science, 63, No 4, 1998 pp 606-610.

OBTENCIÓN DE UN POLVO DE PLÁTANO RICO EN FIBRA. CARACTERIZACIÓN PARCIAL

Islas-Hernández, Jose Juan¹; Rodríguez-Ambriz, Sandra Leticia¹; Agama-Acevedo, Edith¹; Bello-Pérez, Luis Arturo^{1*}

¹Centro de Desarrollo de Productos Bióticos del IPN. Km 8.5 carr. Yautepec-Jojutla, colonia San Isidro, apartado postal 24, 62731 Yautepec, Morelos, México. e-mail: labellop@ipn.mx Fax: 01 735 39 41896.

Palabras clave: Biotecnología de alimentos, fibra, plátano, almidón, alimentos nutraceuticos.

RESUMEN

En este trabajo se preparó un polvo rico en fibra, mediante licuefacción de harina integral de plátano (PRF), se realizó el análisis de algunas propiedades químicas y funcionales. La fibra dietaria total se incrementó (FDT), pero el almidón total (AT), almidón disponible (AD) y almidón resistente (AR) disminuyeron en el PRF. Esto se debe a que durante el proceso de hidrólisis del almidón (licuefacción) disminuye el AT y el AD y se incrementa la FDT. El AR disminuyó debido al calentamiento de la muestra antes del tratamiento enzimático, durante el cual el AR es convertido a almidón disponible. La fracción indigestible total presentó valores altos, con un valor menor de la fracción soluble que la insoluble. Se observó una rápida reducción del DPPH, indicando que los polifenoles presentes en el PRF tienen la capacidad de atrapar radicales libres rápidamente. El PRF presentó similar capacidad de agua y aceite a las temperaturas probadas. En la temperatura más alta del análisis, se presentaron diferencias en la capacidad de absorción de agua debido a que esta es la temperatura de gelatinización del almidón presente en la harina de plátano. Se encontraron pequeñas diferencias entre el PRF y su contraparte nativa en la capacidad de absorción de agua a las tres temperaturas probadas. El PRFLHIP puede ser una alternativa para el desarrollo de alimentos nutraceuticos con alto contenido de FDT, fracción indigestible y capacidad antioxidante.

INTRODUCCIÓN

En México y otros países el plátano es consumido en su estado maduro, por esta razón grandes cantidades de fruto se pierden durante la comercialización como consecuencia de un inadecuado manejo post-cosecha. Nuevas estrategias económicas para el uso del plátano son consideradas, como la producción de harina del fruto en estado verde. Varios estudios han reportado propiedades benéficas a la salud humana debido al consumo del plátano en su estado verde, por su alto contenido de almidón resistente (RS), entre 47-57% (Faisant, et al., 1995). En la actualidad el uso de ingredientes funcionales tiene importancia en la industria de alimentos, especialmente los que pueden aportar cantidades importantes de fibra dietaria. Utilizando la metodología descrita por Bello-Pérez, et al., 2002, en donde mediante la licuefacción de almidón de plátano produce glucosa y maltodextrinas, eliminando gran cantidad de almidón, es posible obtener un producto rico en fibra que pueda ser usado en la elaboración de diversos alimentos funcionales. El objetivo de este trabajo fue realizar licuefacción en harina de plátano verde, con el objetivo de obtener un polvo rico en fibra y evaluar algunas propiedades químicas y funcionales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de la harina de plátano

Se utilizó plátano macho (*Musa paradisiaca* L), comprado en el mercado de Cuautla, Morelos, Se lavó y se pesó descartando el vástago y los ápices de la fruta, posteriormente se cortó en rodajas (con cáscara) muy delgadas dejándolo en remojo con agua previamente adicionada con ácido cítrico al 0.3%, para evitar la oxidación del plátano. Se colocaron las rodajas en charolas y en un horno para su secado a una temperatura de 40°C por un tiempo 48 h. Se molió y tamizó.

Obtención de un polvo rico en fibra

Se realizó una licuefacción a nivel laboratorio en un reactor de 2 L, según el método de Fores-Gorosquieta, et al., 2004. Se preparó una dispersión 20% (W/V), el pH se ajustó 7.3, se gelatinizó a una temperatura de 80°C. Después se redujo la temperatura a 70°C y se adicionó la alfa amilasa termoestable grado alimenticio de la compañía (Starzyme TE, ENMEX,

S.A., México) nominada Licuamil 340 al 0.2% (v/v), posteriormente se dejó reaccionar por 3 h, se dejó enfriar a temperatura ambiente. La enzima se inactivó, agregando HCl al 0.1N hasta alcanzar pH 2.0. El producto resultante se lavó con agua destilada hasta eliminar los residuos de la degradación enzimática, finalmente se pesó, secó y molió.

Composición química

El contenido de humedad se cuantificó gravimetricamente (130± por 3 h.), las cenizas y las proteínas se analizaron de acuerdo al método 08-01 y 46-13 recomendado por la AACC, respectivamente. Para la determinación de la fibra dietaria (FD) se utilizó el método de la AOAC 985.29, el almidón total se determinó por el método de Goñi, García-Alonso, & Saura-Calixto (1997). El contenido de almidón disponible se midió con el método multienzimático descrito por Holm, et al., 1986. El almidón resistente se determinó por el método propuesto por Goñi, et al., (1996). La fracción indigestible soluble (FIS) y la fracción indigestible insoluble (FII) según el método propuesto por Saura-Calixto, et al., (2000).

Determinación de polifenoles solubles totales

La cuantificación de polifenoles solubles totales se realizó de acuerdo al método Folin-Ciocalteu (Montreau, (1972) (Jiménez-Escrig, et al., 2001).

Actividad antioxidante

La actividad antioxidante se determinó usando el método DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) descrito por Soler-Rivas, Espin, & Wichers, 2000. Primeramente se realizó una extracción de los polifenoles utilizando el método reportado por (Salinas, Soto, Martínez, González, & Ortega 1999). Se tomó 1mL del extracto y se mezcló con 2mL de solución de DPPH (60µM en 80% de metanol), la absorbancia fue medida a 515 nm en un espectrofotómetro spectrophotometer (Genesys 5 UV/VIS), a intervalos de (0, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 min). La actividad antioxidante fue reportada como porcentaje del DPPH reducido.

Capacidad de retención de agua (CRA) y aceite (CRAc).

A 1 g de muestra seca, se le agregó 25mL de agua destilada o aceite de oliva, fue agitado y puesto durante 1h a 40, 60 y 80°C. Después se centrifugó y el residuo se pesó. La capacidad de retención fue calculada como g de agua o aceite por g de muestra seca, respectivamente (Larrauri, Rupérez, Borroto, & Saura-Calixto, 1996).

Análisis estadístico

Los resultados se presentan como las medias ± error estándar de tres determinaciones. La comparación de medias fue realizada mediante el análisis de varianza de una vía (ANOVA) utilizando la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el software (SPSS Institute Inc., Cary NC).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición química

El polvo rico en fibra de harina de plátano, muestra mayor contenido de proteína (5.3%), que la harina integral de plátano (Tabla 1). Este patrón es debido a que la enzima α -amilasa fue usada en el proceso de licuefacción para obtener el PRF y después de la inactivación, la proteína es precipitada y cuantificada. El nivel de proteína del control (3.4%) fue similar al reportado previamente (3.27%) en un estudio realizado en nuestro grupo (García-Juárez, et al., 2006), en otro estudio, en donde se caracterizaron ocho diferentes variedades de plátano, los valores fueron de entre 2.5 y 3.3% (Da Mota, et al., 2000). Las frutas se caracterizan por su contenido de minerales, la harina de plátano presentó 4.4% de cenizas y el valor disminuye en el PRF (2.3%). El lavado en el proceso de la licuefacción

elimina algunos minerales presentes en la harina de plátano. García-Juárez, et al., 2006, reportaron un contenido de cenizas de 4.7% en harina de plátano integral. Un mayor contenido de cenizas fue encontrado en harina de plátano verde (2.6-3.5%) (Da Mota, et al., 2000), cantidades parecidas fueron reportadas para *Citrus sinensis* (3.3%) (Chau y Huang, 2003), pero mayor contenido de ceniza fue obtenido en la cubierta uvas (entre 5.7 y 9.2 %) (Bravo, et al., 1998; Saura-Calixto, 1998). La fibra dietaria total (FDT) en PRF fue mas alta (31.8%) que en harina de plátano (10.4%) (Tabla 1), esto se debe a que en el proceso de licuefacción se elimina gran cantidad de almidón y se produce un efecto de concentración, con un consecuente incremento de FDT. Se determinó FDT a ocho variedades de plátano y se obtuvieron valores entre 6.28 y 15.5% (Da Mota, et al., 2000).

El contenido de almidón total en PRF, fue mas bajo (52.4%) que la harina de plátano antes del proceso de licuefacción (76.8%). La hidrólisis por α -amilasa es limitada, esto se relaciona con la estructura cristalina del almidón de plátano que es de tipo C (Millan-Testa, et al., 2005), estos resultados corroboran la alta resistencia de la harina de plátano a la hidrólisis enzimática in vitro (Faisant, Gallant, et al., 1995).

Cuando el almidón resistente (AR) fue evaluado sin calentamiento, se detectó alto contenido de AR (30.4%) en harina de plátano, pero en PRF, este valor disminuye debido a que en el calentamiento durante el proceso de la licuefacción, se destruyen las estructuras cristalinas (Tabla 1). El plátano verde es considerado un alimento no procesado con alto nivel de AR, Faisant, et al., (1995) determinaron alto contenido de AR en harina de plátano (57.2 y 47.3), analizado por dos métodos, diferentes a los usados en este trabajo. El contenido de almidón total y almidón resistente está de acuerdo con el almidón disponible encontrado en ambas muestras. Este valor es debido a que durante la cuantificación de almidón disponible, se calientan las muestras y el almidón resistente tipo II se hace disponible. En PRF el AD fue mas bajo (48.5%) que la harina de plátano.

Tabla 1 Composición química de un polvo rico en fibra de plátano y de harina de plátano.

Muestra	Harina de plátano	Polvo de plátano rico en fibra
Humedad	6.0 ± 0.1 ^a	6.8 ± 0.5 ^b
Proteína °	3.4 ± 0.3 ^a	5.3 ± 0.6 ^b
Cenizas	4.4 ± 0.1 ^a	2.3 ± 0.1 ^b
Fibra dietaria total	10.4 ± 1.4 ^a	31.8 ± 2.1 ^b
Almidón total	76.8 ± 1.0 ^a	52.4 ± 1.1 ^b
Almidón resistente	30.4 ± 0.8 ^a	3.6 ± 0.4 ^b
Almidón disponible	71.5 ± 1.1 ^a	48.5 ± 1.3 ^b
Fracción indigestible insoluble	44.0 ± 0.5 ^a	61.0 ± 1.2 ^b
Fracción indigestible soluble	8.9 ± 0.4 ^a	8.2 ± 0.8 ^a
Fracción indigestible total	52.9 ± 0.5 ^a	69.2 ± 1.0 ^b
Polifenoles solubles totales	2.01 ± 0.03 ^a	2.09 ± 0.08 ^a

Base seca. Los valores son las medias de tres replicas ± error estandar. ° N x 5.85. Los valores con letras iguales en la misma fila no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$).

Se ha reportado que además de los componentes no digeribles detectados en la fibra dietaria total, hay otros como proteína, ciertos polifenoles y otros compuestos asociados, que no se digieren en el intestino delgado, por lo que pasan al colon, donde son sustrato para la microflora fermentativa. Esta fracción fue nombrada fracción indigestible (FI) y esta compuesto por una fracción soluble y una fracción insoluble (Saura-Calixto, et al., 2000). En ambos casos la fracción insoluble fue mayor que la fracción soluble (Tabla 1), pero PRF presento mayores valores de almidón insoluble que su contraparte nativa.

Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante en ambas muestras analizadas fue similar (Figura 1). A los 10 min de reacción se obtiene el valor máximo en cuanto a la reducción de DPPH y se observó una platea. Utilizando la misma metodología, Salinas-Moreno, et al. (2006), reportaron en maíz blanco cantidades importantes de compuestos fenólicos con actividad antioxidante. La máxima reducción de compuestos fenólicos en maíz blanco, fue 30% y la platea se observó a los 60 min. Estos resultados muestran que los compuestos fenólicos presentes en los compuestos ricos en fibra tienen mayor capacidad antioxidante que en el maíz blanco, actuando más rápidamente sobre los radicales libres.

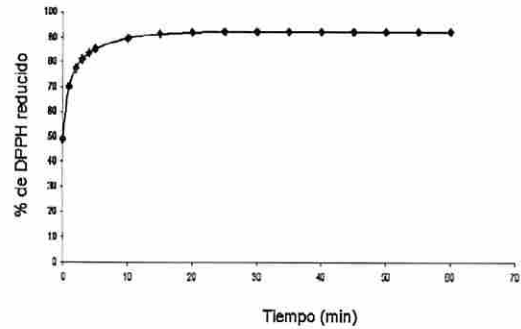
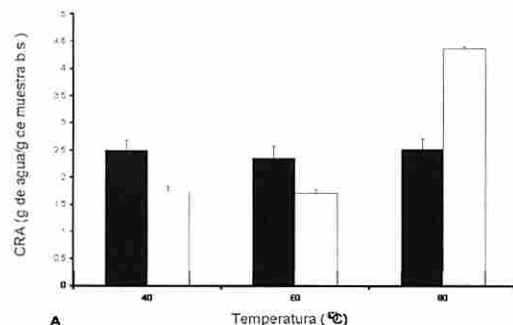
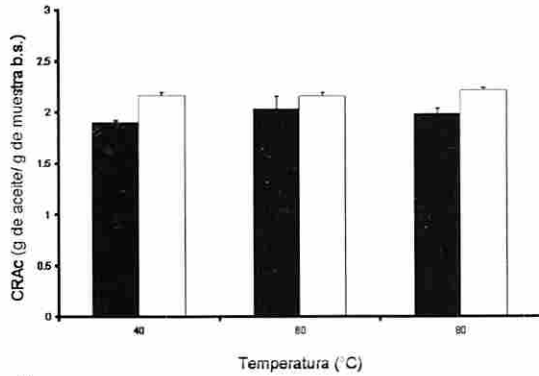


Figura 1. Actividad antioxidante de extracto de polvo de plátano rico en fibra obtenido por licuefacción de harina de plátano.

Capacidad de retención de agua y aceite

Los resultados de capacidad de retención de agua (CRA) y aceite (CRAc) se muestran en la figura 2. El PRF, tuvo mayor (CRA) a 40 y 60°C que su contraparte nativa, sin embargo, no hubieron diferencias entre la misma muestra analizada a ambas temperaturas. Estos patrones se relacionan con la gelatinización del almidón producido durante el proceso de licuefacción durante la preparación del PRF, permitiendo retener más moléculas de agua. Cuando la absorción de agua fue medida a 80°C, se observó un patrón inverso la CRA del PRF, no cambió, pero la harina de plátano se incrementó más del 100%, comparada con la muestra analizada a 60°C. Estos valores se relacionan con el mayor contenido de almidón total que es gelatinizado a 80°C en la harina de plátano nativa (Millan-Testa, et al., 2005) y durante este fenómeno el agua se introduce a los gránulos de almidón, con el consiguiente hinchamiento. Los valores obtenidos en éste estudio, fueron menores que los reportados en fibra dietaria de mango (entre 12-15% para 40 y 60°C) (Vergara-Valencia, et al., 2007). Se determinó la capacidad de retención de aceite en PRF, el cual fue de 2.0 g aceite /g de peso seco de la muestra y de 2.2 g aceite /g de peso seco de la muestra para la harina de plátano nativa, estadísticamente, no hubo diferencia entre las muestras ($p \leq 0.05$). Los resultados tienen relación con el alto carácter hidrofílico del almidón presente en ambas muestras. Larrauri, Rupérez, et al., 1996, reportaron para fibra dietaria de mango valores entre 1.0 y 1.5 g de aceite/g de muestra seca y Chau y Huang, 2003 encontraron para fibra de cáscara de un cítrico 2.35-5.09 g de aceite/g de muestra seca. El PRF puede ser usado en productos que no requieran ser emulsificados.





B Figura 2. Capacidad de retención de agua (CRA) (A) y capacidad de retención de aceite (CRAC) (B) de un polvo rico en fibra ■ y harina de plátano □.

CONCLUSIÓN

La composición química del polvo rico en fibra preparado por licuefacción de harina integral de plátano verde (PRF) presenta alto contenido de fibra dietaria total, fracción indigestible y bajos niveles de almidón total, disponible y resistente, características importantes en la elaboración de ciertos alimentos. El contenido de polifenoles puede considerarse adecuado. Debido al alto contenido de fibra dietaria total y fracción indigestible, el PRF puede ser considerado un ingrediente nutracéutico.

RECONOCIMIENTO

Los autores agradecen el apoyo económico de SIP-IPN, COFAA-IPN, EDI-IPN, LANFOOD and CYTED (106PI0297).

BIBLIOGRAFÍA

American Association of Cereal Chemists: Approved Methods of the AACC (2000) 10th ed. The Association: St. Paul, MN.

Bravo, L., & Saura-Calixto, F. (1998). Characterization of dietary fibre and the in vitro indigestible fraction of grape pomace. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49, 135-141.

Bello-Pérez, L.A., Sánchez-Hernández, L., Moreno-Damian, E., & Toro-Vázquez, J.F. (2002). Laboratory Scale production of maltodextrins and glucosa syrup from banana starch. *Acta Científica Venezolana*, 53, 44-48.

Chau, C.F., & Huang, Y.L. (2003). Comparison of the chemical composition and physicochemical properties of different fibre prepared from de peel of *citrus sinensis* L. Cv. Liu Cheng. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 2615-2618.

Da Mota, R.V., Lajolo, F.M., Ciacco, C., & Cordenunsi, B.R. (2000). Composition and functional properties of banana flour from different varieties. *Starch/Stärke* 52, 63-68.

Faisant, N., Gallant, D.J., Bouchet, B., & Champ, M. (1995). Banana starch breakdown in the human small intestine studied by electron microscopy. *European Journal of Clinical Nutrition*, 49, 98-104.

Flores-Gorosquieta, E., García-Suárez, F.J., Flores-Huicochea, E., Nuñez-Santiago, M.C., González-Soto, R.A., & Bello-Pérez, L.A. (2004). Rendimiento del proceso en la extracción de almidón a partir de frutos de plátano (*Musa paradisiaca*). Estudio en planta piloto. *Acta Científica Venezolana*, 55, 86-90.

Frankel, E.N., & German, J.B. (2006). Perspective: Antioxidants in foods and health: problems and fallacies in the field. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 1999-2001.

González-Soto, R.A., Sánchez-Hernández, L., Solorza-Feria, J., Nuñez-Santiago, C., Flores-Huicochea, E., & Bello-Pérez, L.A. (2006). Resistant starch production from non-conventional starch sources by extrusion. *Food Science and Technology International*, 12, 5-11.

Goñi, I., García-Díaz, L., Mañas, E., & Saura-Calixto, F. (1996). Analysis of resistant starch. A method for food products. *Food Chemistry*, 56, 445-449.

Goñi, I., García-Alonso, A., & Saura-Calixto, F. (1997). A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutrition Research*, 17, 427-437.

Holm, J., Björck, I., Drew, A., & Asp, N. G. (1986). A rapid method for the analysis of starch. *Starch/Stärke*, 38, 224-229.

Jiménez-Escrig, A., Jiménez-Jiménez, I., Pulido, R., & Saura-Calixto, F. (2001). Antioxidant activity of fresh and processed edible seaweeds. *Journal of Science and Food Agriculture*, 81, 530-534.

Juárez-García, E., Agama-Acevedo, E., Sáyago-Ayerdi, S.G., Rodríguez-Ambríz, S.L., & Bello-Pérez, L.A. (2006). Composición, digestibilidad y aplicación en breamaking of banana Flour. *Plata Foods for Human Nutrition*, 61, 131-137.

Larrauri, J. A., Rupérez, P., Borroto, B., & Saura-Calixto, F. (1996). Mango peels as a new tropical fibre: preparation and characterization. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 29, 729-733.

Machado-Rocha, S., de Queiroz, J., Lopes-Ribeiro, M., Milagre-Campos, F., & Pinheiro-Santana, H. (2007). Antioxidant in mang (*mangifera indica* L.) pulp. *Plant Foods for Human Nutrition*, 6, 13-17.

Menezes, E., De Melo, A., Lima, G., & Lajolo, Franco. (2004) Measurement of carbohydrate components and their impact c energy value of foods. *Journal of Food Composition and analysis* 17, 331-338.

Millan-Testa, C.E., Mendez-Montealvo, M.G., Ottenhof, M.A., Farha I.A., Bello-Pérez, L.A. (2005). Determination of the molecular ar structural characteristics of okenia, mango and banana starche *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 495-501.

Official Methods of Analysis 16 ed. (1999). Association of Offici Analytical Chemists, Washington, DC, EUA.

Salinas-Moreno, Y., Robles-Rodríguez, R.R., San Martín-Martínez, E., Pérez-Herrera, P., (2006). Antioxidant activity in masa and tortil from pigmented maize grains. Memories of 4th Internation congress on pigments in foods. Stuttgart-Hohenheim, German; 131-133.

Saura-Calixto, F., García-Alonso, A., Goñi, I., & Bravo, L. (2000). I vitro determination of the indigestible fraction in foods: a alternative to dietary fibre analysis. *Journal of Agricultural an Food Chemistry*, 48: 3342-334.

Saura-Calixto, F. (1998). Antioxidant dietary fibre product: a new concept and a potential food ingredient. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 4303-4306.

Saura-Calixto, F., & Goñi, I. (2006). Antioxidant capacity of the Spanish Mediterranean diet. *Food Chemistry*, 94, 442-447.

Soler-Rivas, C., Espín, J.C., & Wichers, J.H. 2000. An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs. *Phytochemical Analysis*. 11, 330-338.

Ubando, J., Navarro, A., & Valdivia, M.A. (2005). Mexican lime pee comparative study on contents of dietary fibre and associate antioxidant activity. *Food Chemistry*, 89, 57-61.

UTILIZACIÓN DE ENZIMA TRANSGLUTAMINASA EN LA ELABORACIÓN DE SALCHICHAS A BASE DE DESCARTES DE FILETES DE SALMON

Bugueño, Graciela; Petzold, Guillermo; Pinto, Andrea; Plaza, Claudio y Bastías, José Miguel.
Departamento de Ingeniería en Alimentos, Facultad de Ciencias de la Salud y Alimentos, Universidad del Bío-Bío, Av. Andrés Bello s/n, Chillán Chile, gbugueno@ubiobio.cl.

Palabras claves: elaboración de salchichas, enzima TG, salmón, vida útil.

RESUMEN

Fomentar el consumo de pescado en el país es una de las grandes metas de los productores, por lo que la búsqueda de nuevos productos que sean una alternativa para el consumidor es la idea principal de esta investigación, así como incluir alternativas que mejoren los atributos del producto elaborado.

Para cumplir lo anterior el objetivo fue incorporar la aplicación de la enzima transglutaminasa (TG) en la elaboración de salchichas a base de descartes de filetes de salmón (*salmo salar*), incluyendo esto una caracterización química y microbiológica de la materia prima y del producto final, análisis sensorial de las diferentes formulaciones determinando el efecto de la aplicación de proteína y enzima, y la estimación de la vida útil del producto.

La materia prima arrojó los siguientes resultados en el análisis proximal; para descarte de salmón y grasa un 18% y 14% de proteína, 73% y 50% de humedad, 5% y 32% para lípidos respectivamente, datos que fueron utilizados en la preparación de la formulación base. El análisis microbiológico indicó que la materia prima se encontraba apta para su utilización.

Las formulas se evaluaron con un panel sensorial de 32 jueces semi entrenados, dando como resultado que tanto la enzima TG y proteína adicionada no tuvieron un efecto sobre la emulsión y por consiguiente sobre el producto final.

La estimación de la vida útil de las salchichas de salmón, evaluado microbiológicamente, indica que el producto esta apto hasta los 30 días para ser consumido, manteniendo las condiciones y características químicas y microbiológicas de la materia prima y las condiciones de elaboración.

INTRODUCCIÓN

En Chile, dentro del sector de alimentos una de las industrias de mayor relevancia es la actividad pesquera.

En la actualidad, los productos de pescado desmenuzados han evolucionado hasta la elaboración continuada y masiva de artículos muy variados, que han obtenido el favor de los mercados internacionales (Subsecretaría de Pesca, 2004). Entre la variedad de productos derivados de pescado, como materia prima, se encuentra: producto fresco, congelados, enlatados, desecados, salados y ahumados. Existe un tipo de productos que está siendo investigado en la actualidad, la elaboración de emulsiones a base de pescado. Sin embargo, una de sus limitantes es el bajo valor agregado de sus productos.

La especie de mayor volumen de captura es el Jurel (*Trachurus murphyi*), que se destina principalmente a la elaboración de harina de pescado para consumo animal. La otra especie de gran volumen de captura es el Salmón, que son peces muy apreciados por su carne, ésta es libre de espinas, con aproximadamente un 12% de grasa en su composición, lo que le permite ser baja en calorías si la comparamos con carnes no magras, como la de cerdo (22,8%), también es poseedora de todos los tipos de ácidos grasos (saturados, insaturados y polinsaturados), permitiéndole ser un alimento sano para la salud debido a la presencia de los ácidos grasos insaturados, que son de vital importancia para la prevención de accidentes cardiovasculares (disminuye la presencia de colesterol en la sangre). Por otro lado, este tipo de carne es rica en vitaminas A, B y C, así como en yodo, hierro, magnesio y fósforo. Por estas razones la industria salmoneera ha ido en crecimiento desde 1980 hasta la fecha. Según el Informe Sectorial Pesquero y Acuicola 2004, el salmón como recurso aporta un 53,2% del total de la producción a nivel nacional. Los niveles de cosecha del salmón del Atlántico, acumulado a noviembre del 2004 son de 324,3 mil toneladas, cifra superior en un 29,6% respecto del

acumulado al 2003. El recurso es cosechado principalmente en las regiones X y XI, con 291,6 mil ton y 30 mil ton, respectivamente.

Actualmente, la industria de alimentos está utilizando la aplicación de enzimas sobre las proteínas de alimentos cárnicos o de panificación, está permitiendo mejorar la apariencia física de éstos. Una de estas enzimas es la transglutaminasa (TG), una transferasa, específicamente una aciltransferasa, de acción catalítica específica. La TG cataliza la transferencia de un grupo químico de sustrato a otro. Esta enzima induce a la polimerización de las proteínas miofibrilares en productos industriales cárnicos y marinos estableciendo enlaces covalentes entre las proteínas y modificando, en consecuencia, las propiedades texturales, para crear de esta manera productos más consistentes y mejorar, en consecuencia su calidad (Motoki y Seguro, 1998), logrando obtener piezas de buena textura y resistencia son alterar su sabor.

MATERIALES Y METODOS

Materiales

Salmón: Se utilizó descartes de salmón (*Salmo salar*), procedentes de una empresa de la VIII Región.

Transglutaminasa: Activa TG-BH Prinal S.A.

Tripas: Tripas sintéticas.

Aditivos: Sal, Sal de Cura, Polifosfatos; Carragenina, Condimento de Salchicha, Maltodextrina.

Caracterización química y microbiológica de la materia prima.

Para caracterizar la materia prima se realizó los siguientes análisis:

Medición de pH.

Se tomó 10 g de muestra y fue triturada hasta su homogenización. Se utilizó un pH-metro *Extech Instrument*, previamente calibrado con tampones pH 4.0 y 7.0

Contenido de Humedad.

La determinación de humedad se realizó según método de la AOAC (1980) para productos de alto contenido graso, en estufa a vacío.

Determinación de Proteína.

Se efectuó basándose en el método de Kjeldahl (ISO 1979), luego los resultados obtenidos se multiplicaron por un factor de conversión de 6,25.

Determinación de Materia Grasa.

Se determinó por extracción de la materia grasa mediante un solvente orgánico en un equipo de extracción *Soxhlet*, modelo B-810. Se pesó el residuo libre de solvente y se expresó como porcentaje de lípidos, según método 948.15 (AOAC, 1996).

Caracterización microbiológica.

Los análisis microbiológicos como control a la materia prima se aplicó: recuento total de bacterias, recuento de *E. coli* (NMP) (ISP, 1998), *Staphylococcus aureus* (NMP) (ISP, 1998), *Clostridium perfringens* (ISP, 1998), determinación de *Salmonella spp.* (ISP, 1998), *Listeria monocytogenes* (APHA, 1990).

Seguimiento de perecibilidad.

Para seguimiento del deterioro del producto: Recuento de bacterias psicófilas (ISP, 1998), recuento de *Lactobacillus* (ISP, 1998), *Staphylococcus aureus* (NMP) (ISP, 1998), y recuento total mesófilos Aerobios (RAM) (ISP, 1998).

Los resultados microbiológicos obtenidos fueron comparados con los límites establecidos por el Reglamento Sanitario de los Alimentos (González, 2004).

Preparación de las Salchichas de Salmón.

Se recepcionó la materia prima y de acuerdo a los resultados obtenidos del análisis proximal, se procedió a buscar la formulación base de las salchichas del salmón.

Dicha formulación tuvo una variación de enzima Transglutaminasa de 0.0 – 0.5 % y la adición de proteína según el siguiente diseño experimental:

Con la formulación base encontrada, se procedió con la elaboración de las salchichas. El primer proceso correspondió al acondicionamiento de la materia prima, la que fue revisada para y limpiada para retirar la presencia de espinas, piel. La grasa adicionada también fue acondicionada, a la que debió retirarse piel.

Con la materia prima acondicionada, se pesó las cantidades necesarias para cada formulación: descarte de filete, grasa de salmón, Activa TG-BH, aditivos: sal, polifosfatos, sal de cura, carragenina, maltodextrina, condimento de salchicha.

La emulsión formada fue embutida en tripas sintéticas, con la ayuda de una embudidora manual.

Formadas las salchichas, se llevaron a una pasteurización o cocción, la temperatura fue monitoreada utilizando un registrador de temperaturas, marca *ELLAB COPENHAGEN*; modelo CTF-88, donde termocuplas fueron insertadas en el centro geométrico de las salchichas y en el agua de cocción.

Terminado el proceso de cocción, el producto fue llevado a un enfriamiento rápido en agua-hielo hasta alcanzar una temperatura de 5°C en el centro geométrico. Cuando se alcanzó dicha temperatura, se retiraron las tripas que envuelven las salchichas y se envasaron a vacío en refrigeración, hasta ser utilizadas para el análisis proximal, microbiológico y la evaluación sensorial.

Análisis Sensorial

Para seleccionar la mejor formulación se aplicó un test de aceptabilidad.

En las muestras en que se adicionó TG y proteínas se aplicó un test de preferencia.

Diseño experimental

Se aplicó un diseño experimental factorial mixto de 2x2, con factores: porcentaje de enzima, y presencia o ausencia de proteína, ambos a dos niveles: 0.0 – 0.5% de TG y presencia /ausencia de proteína.

Los resultados obtenidos en la evaluación sensorial y de forma instrumental fueron analizados y comparados a través de una ANOVA con un software estadístico Statgraphic plus 5.0, utilizándose un $\alpha=0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 1 muestra los resultados del análisis proximal para la materia prima: descarte de filete y grasa de salmón que serían utilizadas en la elaboración de las salchichas. Estos componentes tienen máxima importancia en lo referente a valor nutritivo, propiedades texturales, calidad organoléptica y capacidad de almacenamiento de la carne.

Tabla 1 Valores medios de la composición química proximal de la carne y grasa de salmón^a.

Análisis	Descarte de filete	Grasa
	%	%
Humedad	73	50
Proteínas	18	14
Lípidos	5	32
Cenizas	1	1
E.N.N. ^b	3	3

a: resultados en base húmeda.

b: resultado obtenido por diferencia.

El porcentaje de proteínas está bajo el rango informado por Madrid (1994), lo que puede ser debido al daño mecánico que sufren éstas durante la extracción de los descartes y durante la congelación. Además de las proteínas, el porcentaje de lípidos también está bajo el rango informado, lo que se debe a que el descarte analizado corresponde específicamente a filete y la parte más grasa se retira con anterioridad del filete, al momento de homogeneizar el tamaño y la forma de éstos, y forma parte de los descartes llamados grasa de salmón, que fueron analizados en forma separada.

La tabla 2 muestra los resultados de los análisis microbiológico de la materia prima, salmón (*Salmo salar*). Los resultados fueron obtenidos utilizando las técnicas microbiológicas establecidas por el ISP (1998) para *E. Coli*, *S Aureus* y *Salmonella spp.* y por el APHA (1990), en el caso de pesquisa de *Listeria Monocytogenes*.

Estos resultados indican que la materia prima se encontraba en condiciones óptimas de ser utilizada, ya que daba cumplimiento con los parámetros establecidos en V/ III/ 173 N°11.2 del Reglamento Sanitario de los Alimentos (González, 2004).

Tabla .2 Análisis microbiológico de Salmón (Salmo salar)

Recuentos	Materia prima
<i>E. Coli</i>	Negativo
<i>S. Aureus</i>	<3 NMP/g
<i>Salmonella spp.</i>	Ausencia
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ausencia
<i>Cl. Perfringes</i>	Ausencia

Obtención de la formulación base.

Evaluación Sensorial y Análisis Estadístico I

La primera evaluación incluyó la presentación de 4 muestras, según el diseño experimental planteado, para esto se aplicó un test de aceptabilidad.

Los test de aceptabilidad pertenecientes a este grupo permiten tener una indicación de la probable reacción del consumidor, frente a un nuevo producto, o a una modificación de uno ya existente o de un sucedáneo o sustituto de los que habitualmente se consumen (Wittig de Penna, 1990).

La tabla 3 muestra las medias y la desviación estándar de cada una de las muestras analizadas, respecto a cada atributo.

Tabla 3 Medias y desviación estándar para cada muestra, frente a cada atributo.

Atributo /Muestra	A	B	C	D
Color	3.22 ± 0.94 ^a	3.53 ± 0.95 ^a	3.44 ± 0.91 ^a	3.41 ± 0.91 ^a
Aroma	3.56 ± 0.87 ^a	3.62 ± 0.87 ^a	3.41 ± 0.91 ^a	3.50 ± 0.88 ^a
Sabor	3.72 ± 1.05 ^a	3.72 ± 0.88 ^a	3.28 ± 1.14 ^a	3.44 ± 0.87 ^a
Textura	3.53 ± 0.80 ^a	3.50 ± 0.88 ^a	3.53 ± 0.80 ^a	3.66 ± 0.74 ^a
Aceptabilidad Total	3.44 ± 0.84 ^a	3.56 ± 0.71 ^a	3.38 ± 0.66 ^a	3.47 ± 0.76 ^a

A: Salchichas de salmón con proteína y sin enzima

B: Salchichas de salmón con proteínas y con enzima

C: Salchichas de salmón sin proteína y sin enzima

D: Salchichas de salmón sin proteína y con enzima

El análisis estadístico de los resultados obtenidos en la evaluación sensorial de las salchichas de salmón indica que no existe diferencia significativa para los distintos atributos.

Evaluación Sensorial y Análisis Estadístico II

En la segunda evaluación sensorial fueron dos las muestras (A y B) sometidas al juicio de los panelistas, ausencia y presencia de proteína. Se preguntó a los panelistas sobre la preferencia en los atributos de color, aroma, sabor, textura y aceptabilidad total entre ambas muestras, utilizando para esto una prueba afectiva.

La muestra A fue preferida por el 75% de los panelistas. Como ya se mencionó, esta muestra contenía una pequeña cantidad de colorante vegetal. Este resultado indica que un potencial consumidor se inclinaria por un producto que en cuanto a color sea muy similar al resto de las salchichas presentes en el mercado. Los resultados de la preferencia sensorial entre las muestras de salchicha de salmón en relación al atributo aroma, no presentó preferencia por una en particular. Al no existir una tendencia por una de las dos muestras se elige la salchicha que no tiene proteína; esta elección se debe al menor costo que presentaría la elaboración de esta. Como la formulación base es igual para ambas muestras, se observa con esto que la proteína de soja no tiene un efecto sobre el aroma característico a salmón que tienen las salchichas, conservándose este aroma

natural y no ocurriendo un enmascaramiento. Los resultados de la preferencia sensorial entre las muestras de salchicha de salmón en relación al atributo sabor preferencia de la salchicha sin la adición de proteína, esto debido a que la proteína de soya modifica algunos alimentos, enmascarando el sabor original del producto.

Al evaluar el atributo textura se observó una baja diferencia entre las muestras con y sin proteína. La preferencia es sobre la muestra A, con un 55% del universo de evaluadores, que la que contiene proteína. Esto se debe a que la adición de proteína aumenta la concentración de la proteína total en la emulsión, siendo capaz de formar mayores enlaces de carácter proteico, aumentando además la superficie de contacto proteína-agua-grasa.

Al observar los resultados obtenidos en la aceptabilidad total, con un 60% para la muestra B y un 40% para la muestra A, se aprecia que el posible consumidor prefiere aquel producto que tenga un sabor lo más parecido al de la materia prima original (salmón) y no así aquel producto que contiene proteína vegetal adicional, que modifica el sabor.

Tabla 4 Análisis químico proximal de las salchichas de salmón^a

Análisis	% (bh)
Humedad	64.53 ± 0.09
Proteínas	15.36 ± 0.30
Lípidos	13.69 ± 0.10
Cenizas	1.43 ± 0.06
E.N.N.b	4.98

a: resultados en base húmeda. b: resultado obtenido por diferencia.

Determinación de la vida útil

Los análisis se realizaron entre los días 0 y 30, que es lo comercialmente establecido para este tipo de productos. Los resultados obtenidos de estos análisis se muestran en la tabla 5

Tabla 5. Valores medios del recuento microbiológico del producto final.

Día Recuento	R A M ^a	S. aureus NMP / g	Psicrófilos	Lactobacillu
0	1.0x10 ¹	< 3	< 10	< 10
10	2.35x10 ²	< 3	< 10	< 10
15	1.12x10 ³	< 3	< 10	< 10
20	2.47x10 ⁴	< 3	< 10	< 10
24	2.51x10 ⁴	< 3	< 10	< 10
26	2.55x10 ⁴	< 3	< 10	< 10
30	2.70x10 ⁴	< 3	< 10	< 10

Caracterización del Producto final

Después de la segunda evaluación no se observó diferencias entre las muestras, estadísticamente con un $\alpha=0.05$. Se eligió la muestra que representaba el menor costo de producción, tomando en cuenta solo la materia prima. Con estos datos, se dejó como producto final aquella que fue elaborada sin proteína vegetal adicional, la tabla 4 muestra la composición proximal del producto elaborado.

CONCLUSIONES

Es posible predecir que la vida útil de las salchichas puede llegar aproximadamente sobre los 30 días.

Con estos resultados se puede decir que la utilización de enzima y proteína no influye en los atributos evaluados. Sensorialmente no es perceptible la acción de la enzima en la formación de una emulsión, por lo que la utilización de enzima aumenta el costo de producción.

La posible incorporación de este producto al mercado está dirigida a todo tipo de consumidor, y tiene la finalidad de fomentar el consumo de productos del mar en nuestro país.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad del Bío Bío, Unidad de Investigación por financiar el Proyecto DIUBB 061421 3/R.

BIBLIOGRAFIA

GONZÁLEZ, C., 2004 "Nuevo Reglamento Sanitario de los Alimentos". Ediciones Publibey. Págs 90, 91
 INSTITUTO DE SALUD PUBLICA DE CHILE, 1998 "Manual de Técnicas Microbiológicas para Alimentos y Aguas". Págs. 14-20.
 MADRID, A. 1994, "Tecnología del Pescado y Productos derivados", Editorial Mundiprensa S.A. Págs 17-30.
 MOTOKY, M. & SEGURO, K. 1998, "Tranglutaminase and its use for food Processing", Trends in Food Science and Technology Vol. 9, Págs 204-210.
 SUBSECRETARIA DE PESCA, 2004, "Informe Sectorial Pesquero y Acuicola", Departamento de Análisis Sectorial. Gobierno de Chile.
 WITTIG DE PENNA, E., 1990. "Evaluación Sensorial: Una metodología actual para tecnología de alimentos". Págs 45-50

CASHEW APPLE FRUIT (*ANACARDIUM OCCIDENTALE* L.) JUICE CONCENTRATION BY REVERSE OSMOSIS.

Katia Terrine¹; Poliana Gurak²; Lourdes Cabral^{3*}; Virgínia Matta³; Max Reynes⁴; Manuel Dornier^{1,4}; Fernando Abreu⁵.

¹École Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires, Montpellier, France.

²Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

³Embrapa Agroindústria de Alimentos, Av. das Américas, 29501, 23020-470, Rio de Janeiro-RJ, Brasil, lcabral@ctaa.embrapa.br.

⁴Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement, Montpellier, France

⁵Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE, Brasil.

Key words: juice processing, cold concentration, vitamin C.

ABSTRACT

Cashew apple is a Brazilian pseudo fruit known by its very high vitamin C content. In this work single strength cashew apple juice was concentrated by reverse osmosis in a plate and frame pilot plant with 0.64 m² of filtration area. A factorial design (2²) was used to evaluate the effects of the independent variables, temperature and transmembrane pressure on vitamin C loss and permeate flux. After analyses of its results it was decided to fix the concentration operation condition on 25°C and 60 bar transmembrane pressure. The juice concentrated by reverse osmosis presented 26°Brix, acidity and vitamin C contents proportional to the volumetric concentration factor, 2.9.

INTRODUCTION

Cashew apple is a tropical fruit in which the real fruit is a nut. The edible portion, representing 90% of the fruit, is a pseudo fruit rich in vitamin C. Fresh pseudo fruit consumption is still limited to the regions close to the production, but the juice is widely accepted by the Brazilian population, due to its less astringent taste and pleasant aroma and flavour (Campos et al., 2002; Paiva et al., 2000). Fruit juices are concentrated to allow economy in storage, transportation, distribution and commercial operations, as well as conservation due to water activity reduction. Concentration is traditionally carried out through the use of high temperatures, promoting significant sensory and nutritional changes of the fruit juice quality since these characteristics are conferred by volatile components and vitamins, which are thermosensible compounds.

Reverse osmosis is a pressure driven membrane process that can be an alternative for juice concentration, as it does not involve phase change or the use of high temperatures (Mulder, 1991). The main advantages of reverse osmosis concentration are the attainment of high quality products due to low temperature operation, resulting in the maintenance of nutritional, aroma and flavour compounds, the lower energy consumption and the use of compact installations, of easy operation (Alvares et al., 2000; Rodrigues et al.; 2004, Sa et al., 2003; Jesus et al., 2007).

Cianci et al (2005) studied the concentration of clarified cashew apple juice by reverse osmosis. Clarified juice with 12.1 °Brix was concentrated up to 28,6 Brix and vitamin C content increased from 162mg/100g in clarified juice to 372mg/100g in the concentrate. The flux was 11.3L/hm².

The aim of the present work was to evaluate the quality of single strength cashew apple juice concentrated by reverse osmosis, taking into account the concentration factor, soluble solids content and vitamin C concentration.

MATERIAL AND METHODS

The raw material was the commercial red peel cashew apple pseudo fruit from the northeast of Brazil. The juice was extracted by pressing the fruits, centrifuged and stored at -18°C until use.

The reverse osmosis experiments were carried out in a plate and frame module of 0.64 m² membrane surface with

polysulphone/polyamide composite membranes (95% NaCl rejection).

The pump flow rate was kept at 650 L/h. The reverse osmosis trials were carried out in two different operating modes: steady state and concentration.

The steady state mode was characterized by the re-circulation of both streams, retentate and permeate, without juice concentration. These experiments were accomplished with two hours of duration. An experimental design was carried out including seven experiments: four conditions in the bounds of the domain and three repetitions at the central point. The independent variables were temperature and transmembrane pressure. The minimum and maximum levels were: temperature (20°C - 40°C) and pressure (40bar- 60bar) as shown in Table 1.

Table 1: Factorial design of the steady state experiments.

Trial	Temperature (°C)	Transmembrane pressure (bar)
1	20	40
2	40	40
3	20	60
4	40	60
5	30	50
6	30	50
7	30	50

By analysing the results it was decided that the concentration operation conditions should be at 25°C and 60 bar transmembrane pressure. In these concentration mode, the permeate was continuously removed and the retentate recirculated.

Juice samples (single strength, centrifuged and concentrated juices) were analyzed for total soluble solids content (Bellingham + Stanley Limited refractometer), acidity (titration with NaOH solution) and pH (Metronal E120 potentiometer), according to standard AOAC methods (AOAC, 1995). Vitamin C was analyzed by oxide-reduction reaction using 2,6-dichlorophenol indophenol (AOAC, 1995). The juice colour was evaluated by a Suga SM-4-CH colorimeter using the Hunter system.

The data were treated with aid of Statistica 5.5 software

RESULTS

To define the best condition for the concentration process, it was evaluated the effect of the transmembrane pressure and temperature on the vitamin C loss and in the permeate flux (Table 2).

Transmembrane pressure is the driving force of reverse osmosis. It correlates positively with the permeate flux.

In this work it was verified that at 20°C and 40 bar, the stabilized permeate flux was 15.2 L/hm² and by increasing the pressure up to 60 bar the permeate flux reaches 20.0 L/hm². Nevertheless, transmembrane pressure enhancement results in low alteration of the vitamin C content. It can be observed a

slight change in vitamin C degradation by the increase of transmembrane pressure (from 8.6% at 40 bar to 8.9% at 60 bar, Table 2).

Temperature is involved in several phenomena during reverse osmosis. It decreases the juice viscosity and influences the diffusion coefficient behaviour. When the temperature increase from 20°C to 40°C the permeate flux increased from 20.0 L/hm² to 31.8 L/hm² at 60 bar (Table 2).

It can be also noticed a synergetic effect of temperature and pressure on permeate flux.

Notwithstanding, temperature beyond 35°C can lead to degradation and/or alteration of nutritional and aromatic compounds. Cashew juice vitamin C can undergo two types of degradation reactions during reverse osmosis process: oxidation and *Maillard* reaction. High temperature enables both of these types of degradation.

The transmembrane pressure increase has no relevant consequence at 20°C, but at 40°C the same modification in pressure lead to a very significant enhancement of the permeate flux, from 22.0 L/hm² to 31.8 L/hm² (Table 2).

Consequently, in order to conserve vitamin C while maintaining an important flux, the process of concentration of cashew juice should be carried out at high pressure and low temperature.

Table 2: Influence of process conditions on vitamin C and permeate flux (steady state processes).

Process conditions	Vitamina C loss (%)	Permeate flux (L/h.m ²)
20°C; 40bar	8.6	15.2
40°C; 40 bar	15.2	22.0
20°C; 60 bar	8.9	20.0
40°C; 60 bar	24.3	31.8
30°C; 50 bar	10.35	19.6

The surface response was obtained for vitamin C (Figure 1).

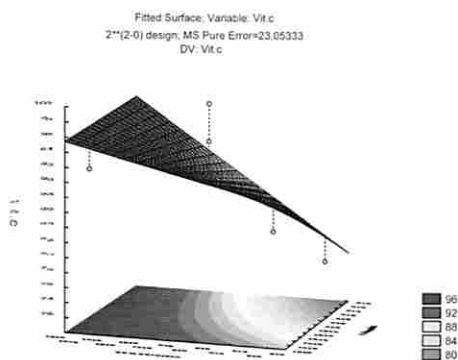


Figure 1. Effect of temperature and transmembrane pressure on permeate vitamin C.

The best process conditions were defined at temperature of 25°C and transmembrane pressure of 60 bar.

In these conditions, cashew juice was concentrated up to 2.5 times (from 9.2 to 26.0°Brix). The process characterization is shown on Table 3.

It was verified an increase in total acidity due to the retention of the juice components, but the pH of the concentrated juices remained the same as the single strength juice due to the high buffer power of the solution.

When compared to the single strength cashew juice, the juice concentrated by reverse osmosis presented higher acidity and vitamin C content. The batch process carried out at 60 bar and 25°C presented a volumetric concentration factor of 2.9 and resulted in a 26°Brix final product.

Through the colour parameters L and b, it was observed that the concentrated juice maintained its colour characteristics. No colour or haze were detected in the permeate streams.

Table 3: Physical and chemical characteristics of feed juice and concentrated juice from reverse osmosis at 25°C and 60 bar .

	Feed Juice	Concentrated Juice
pH	4.32	4.14
Acidity (meq./100g)	112.5	221.6
Total soluble solids (°Brix)	9.2	26
Vitamin C (mg/100g)	185	475
Colour		
L	8.8	14.1
a	1.88	1.25
b	5.9	7.91
Haze	97.9	98.4

L – luminosity (0 = black and 100 = white); a - (-80 to zero = green, from zero to +100 = red); b - (-100 to zero = blue, from zero to +70 = yellow).

CONCLUSIONS.

Cashew apple juice concentration using plate and frame polyamide membranes was carried out with high retention of sugar and vitamin C. When compared to the single strength cashew juice, the juice concentrated by reverse osmosis presented higher acidity and vitamin C content. The batch process resulted in a 26°Brix final product.

ACKNOWLEDGEMENTS

K Terrine was funded by a scholarship at Embrapa Food Technology by the French Ministry of Science and Technology. The authors thank to PAVUC Project FP6-2003-Inco-Dev 2 for financial support.

REFERENCES

Alvarez, S.; Riera, F.A.; Coca, J.; Cuperus, F.P; Bouwer, S.T.H.; Boswinkel, G.; Van Gemert, R.W.; Todisco, S.; Drioli, E.; Olsson, J.; Tragardh, G.; Gaeta, S.N.; Panyor, L. A new integrated membrane process for producing clarified apple juice and apple juice aroma concentrate. *Journal of Food Engineering*, v.46, p.109-125, 2000.

AOAC - Association of Official Analytical Chemist.. **Official Methods of Analysis: Food Composition**; Additives; Natural Contaminants. Ed. Helrich, K, Washington D.C., 16th ed., 1995.

Campos, D C P; Santos, A S; Wolkoff, D B; Matta, V M; Modesta, R C D; Cabral, L M C; Couri, S. Clarificação de jugo de anacardo utilizando tratamento enzimático y microfiltración. *Alimentaria*, v. 2, n. 34, p. 121-124, 2002.

Cianci, F.C.; Menezes, L.F.S.; Cabral, L.M.C. Matta, V. M. Clarificação e concentração de suco de caju por processos com membranas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 25, n. 3, p. 579-583, 2005.

Jesus, D.F.; Leite, M.; Silva, L.F.M., Modesta, R.C.D.; Matta, V.M.; Cabral, L.M.C. Orange (*Citrus sinensis*) juice concentration by reverse osmosis. *Journal of Food Engineering*, v. 81, p.287-297, 2007.

Mulder, M. **Basic principles of membrane technology**. S.I.: Kluwer Academic Publishers, 1987. 363p.

Paiva, E.E.A. ; Garruti, D.S.; Silva Neto, R.M. Aproveitamento Industrial do Caju. *Embrapa Cnpat/Sebrae*, Ce, Fortaleza (Embrapa-Cnpat 38), 2000, p. 85.

Rodrigues, R.B., Menezes, H. C., Cabral, L. M. C., Dornier, M., Rios, G. M.; Reynes, M. Evaluation of reverse osmosis and osmotic evaporation to concentrate camu-camu juice (*Myrciaria dubia*) *Journal of Food Engineering*, v.63, n.(1, p.97-102, 2004.

Sa, I.S.; Matta, V.M.; Cabral, L.M.C. Concentration of Pineapple Juice by Membrane Separation Processes. *Brazilian J. Food Technology*, v.6, p.53-62, 2003.

SECAGEM OSMO-CONVECTIVA DA FRUTA DA PALMA FORRAGEIRA (*Opuntia figus indica* Mill)

Cavalcante, J. A., Medeiros, C. D., Alsina, O. L. S.

Unidade Acadêmica de Engenharia Química – Universidade Federal de Campina Grande
Av. Aprígio Veloso, 882 – CEP: 58109-970 – Campina Grande – PB – Brasil
Telefone: (83) 3310-1115 – Fax: (83)3310-1114 – Email: josy@deq.ufcg.edu.br

Keywords: desidratação osmótica, secagem convectiva, fruta da palma.

RESUMO

O Brasil é terceiro maior produtor de frutas do mundo, mas têm a quase totalidade de sua produção voltada para o mercado interno, com baixa presença no comércio internacional. Para ganhar o mercado externo é necessário, portanto, além do domínio tecnológico do processo produtivo em escala industrial, o conhecimento das alterações fisiológicas que ocorrem em cada produto durante o período pós-colheita, que se inicia com os cuidados indispensáveis na colheita, passando pelo manuseio do produto, transporte, beneficiamento e armazenagem. A utilização do processo de desidratação osmótica como pré-tratamento à secagem convectiva tem sido sugerida por diversos pesquisadores por ser considerado um método capaz de obter um produto de boa qualidade mediante redução de sua umidade. A fruta da palma, também conhecida como figo barbaria, figo tuna e figo da Índia, contém vitaminas e açúcares, o que faz dela uma fonte potencial para a industrialização e comercialização. Este trabalho teve como objetivo estudar a influência da concentração da solução desidratante e tempo de imersão sobre a cinética de secagem da palma forrageira. O pré-tratamento osmótico da fruta da palma foi conduzido à temperatura ambiente, aproximadamente 27 °C, utilizando solução de sacarose com 30, 40 e 50 °Brix. O tempo de imersão da amostra na solução osmótica foi de 6, 15 e 24 horas. A secagem convectiva

INTRODUÇÃO

A maioria das frutas tropicais são altamente perecíveis, com vida útil curta, que implica em perdas na produção. Devido a esse problema, processos envolvendo técnicas para a conservação desses alimentos são empregados. O processo de secagem a ar é o método mais empregado, mas possui diversas desvantagens, como a necessidade de altas temperaturas e o alto consumo de energia.

A utilização do processo de desidratação osmótica das frutas e vegetais está ganhando atenção, pois o pré-tratamento osmótico antes de outros métodos de secagem minimiza danos de coloração, textura, diminui a temperatura de processo e o consumo de energia, além de conservar melhor as características nutricionais e sensoriais do produto (Giraldo *et al.*, 2006).

A palma forrageira (*Opuntia figus indica* Mill) é uma das cactáceas do semi-árido do Nordeste do Brasil que se destaca por possuir características adaptáveis às condições adversas da região, é uma alternativa econômica que pode contribuir para o desenvolvimento da região.

As diferentes partes da palma forrageira podem ser utilizadas em diversos ramos de atividades. No ramo alimentício, as hastes da planta podem ser utilizadas para produção de farinha, as sementes para a extração de óleos e a fruta da palma, além de ser consumida na forma *in natura*, também pode ser consumida na forma de produtos manufaturados como: geléias, bebidas alcoólicas, xaropes, frutas cristalizadas. No ramo da medicina, as diferentes partes da palma forrageira: hastes e frutas são úteis para o tratamento da diabete, do alto nível de colesterol no sangue, da inflamação e da obesidade (Galati *et al.*, 2001; Park *et al.*, 2001).

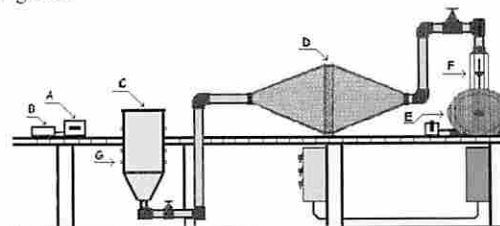
De acordo com Corbo *et al.* (2004) a fruta da palma é uma baga com aparência oval, de casca grossa carnosa (30 a 40% do peso da fruta) envolvendo uma polpa suculenta com muitas sementes revestidas de uma camada dura (5 a 10% do peso da polpa). É rica em vitamina C, cálcio e fibras (Cantwell, 2001).

MATERIAIS E METODOLOGIA

Matéria-prima: A fruta da palma (figo da Índia), utilizada neste trabalho, é proveniente da região do cariri paraibano, da cidade de Boqueirão. As mesmas foram colhidas em estado de maturação apropriada para o consumo, acondicionadas em caixas e transportadas ao Laboratório de Transferência em Meios Porosos e Sistemas Particulados (LTMPS) da Unidade Acadêmica de Engenharia Química da Universidade Federal de Campina Grande. Para cada experimento realizado, as frutas foram cortadas nas extremidades e descascadas cuidadosamente devido aos pequenos espinhos que constituem a sua casca. Depois de descascadas, as frutas foram cortadas em fatias de espessura e diâmetro aproximadamente iguais.

Equipamento: Para este trabalho foi utilizado o secador de leito fixo, constituído da câmara de secagem e dos periféricos básicos, disponível no LTMPS. A câmara de secagem consiste em uma seção cilíndrica construída de chapa de ferro com 17,80 cm de diâmetro e 60 cm de altura. Possui uma seção inferior tronco-cônica que funciona como um distribuidor de ar onde são colocadas esferas de vidro, empilhadas aleatoriamente, que permite a uniformidade do fluxo de ar de secagem em todo o leito. A câmara é isolada termicamente com lã de vidro. As suas laterais contêm furos onde são colocados termopares para medir as temperaturas de entrada e saída do ar de secagem.

O esquema geral da montagem experimental é mostrado na Figura 1.



LEGENDA:

- | | |
|-------------------------------|------------------------|
| A. Controlador de temperatura | E. Compressor radial |
| B. Milivoltímetro | F. Rotâmetro |
| C. Câmara de secagem | G. Furos para sensores |
| D. Aquecedor | |

Figura 1. Esquema do sistema de secagem.

Experimentos de desidratação osmótica

Fatias da fruta da palma foram pesadas e colocadas em bandejas inoxidáveis individuais e numeradas. Estas bandejas com as amostras foram então imersas na solução osmótica, que foi colocada num recipiente à temperatura ambiente e sem agitação. As concentrações da solução osmótica e os tempos de imersão da fruta nas soluções foram definidos com base nos dados obtidos por Medeiros (2006). Foi utilizada a técnica de planejamento experimental para avaliar a influência do pré-tratamento osmótico sobre a secagem convectiva da fruta da palma. A análise fatorial completa com as duas variáveis de entrada consideradas gerou $2^2 = 4$ experimentos. Uma boa estimativa dos erros experimentais é obtida com a realização de ensaios com replicatas no ponto central, que corresponde a valores médios entre os níveis inferiores e superiores das variáveis de entrada consideradas. Neste estudo foram realizados três experimentos no ponto central, tendo um total de

7 experimentos. Na Tabela 1 são mostradas as variáveis experimentais independentes.

Tabela 1. Variáveis de entrada e seus respectivos níveis para o planejamento experimental da secagem osmo-convectiva da fruta da palma.

Variáveis	Unidades	Níveis		
		-1	0	+1
Tempo de imersão	horas	6	15	24
Concentração solução	°Brix	30	40	50

Experimentos de secagem convectiva

Para os experimentos de secagem convectiva as fatias da fruta da palma pré-tratadas osmoticamente eram pesadas e colocadas nas bandejas. A temperatura e umidade do ar de secagem e a temperatura da fruta foram medidas por sensores que foram dispostos na entrada do secador, ao longo do mesmo e na fruta. A velocidade do ar de secagem e o tempo de secagem foram definidos com base nos dados obtidos por Cavalcante *et al.* (2006), que estudaram a secagem convectiva da fruta da palma sem pré-tratamento osmótico. A massa de sólido seco foi obtida após 24 horas de secagem na estufa com temperatura de 105 °C. Após a obtenção dos dados de massa seca, calculava-se a umidade do material (X), incluindo a umidade inicial (X₀) e a razão X/X₀. As curvas de secagem foram plotadas com os dados da umidade X e da razão X/X₀ em função do tempo. As variáveis mantidas constantes durante a secagem osmo-convectiva da fruta da palma são apresentadas na Tabela 2:

Tabela 2. Variáveis mantidas constantes durante os experimentos da secagem osmo-convectiva da fruta da palma.

Fruta		Processos	
Figo da Índia		Secagem convectiva	
Massa total (g)	Espessura da fatia (cm)	Tempo (h)	Velocidade do ar (m/s)
140	1	7	1,15

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 2 são apresentadas as curvas dos teores de umidade adimensional versus tempo de secagem, obtidas experimentalmente. São três repetições no ponto central do planejamento experimental utilizado para o estudo do processo de secagem da fruta da palma.

Foi observado, através da Figura 2, que existe boa reprodutibilidade no comportamento da secagem no ponto central, principalmente para os experimentos 5 e 6. O experimento 7 apresenta pequena discrepância, com uma secagem um pouco mais lenta que nos outros dois, especialmente a partir dos 100 minutos iniciais. Uma das possíveis causas da não reprodutibilidade do experimento 7 é a maior umidade relativa do ar, variável não controlada no presente trabalho. Para os experimentos 5, 6 e 7 foram medidas as seguintes faixas de umidade relativa do ar ambiente: 61,5±4,5%, 60,5±4,5% e 69,2±4,5% respectivamente.

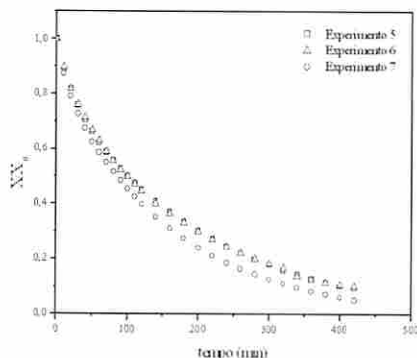
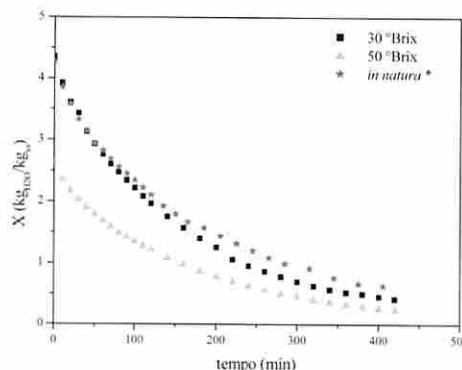
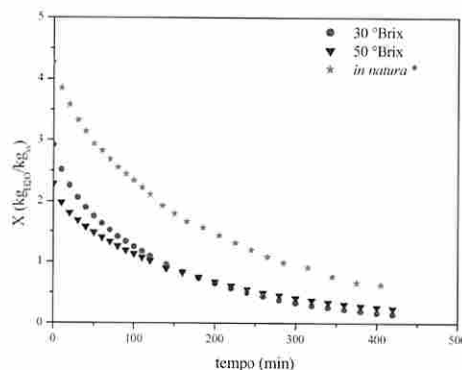


Figura 2. Reprodutibilidade da cinética de secagem no ponto central.

A influência do pré-tratamento osmótico sobre o teor de umidade no decorrer da secagem convectiva da fruta da palma é apresentada nas Figuras 3 e 4.



(a) tempo de imersão = 6 horas



(b) tempo de imersão = 24 horas

Figura 3. Influência do °Brix da solução osmótica no perfil de umidade da fruta da palma nas condições: T = 57 °C e v = 1,15m/s

*Cavalcante *et al.* (2006): T = 57 °C e v = 1,15m/s

Na Figura 3 são apresentadas as curvas de secagem sob influência da concentração da solução osmótica para dois tempos de imersão. Observou-se na Figura 3 (a), que a concentração de 30°Brix não influenciou na secagem osmo-convectiva da fruta da palma. Já para a concentração de 50°Brix ocorreu uma diminuição considerável da umidade inicial da fruta da palma (4,3 kg₁₂₀/kg_{ss}), apresentando uma umidade inicial em torno de 2,6 kg₁₂₀/kg_{ss}. Na Figura 3 (b), onde o tempo de imersão é maior, as curvas apresentam comportamento diferente, com umidade inicial variando de 2,3 a 3 kg₁₂₀/kg_{ss}. Após 1:40 horas de secagem a umidade da fruta decresce igualmente para ambas concentrações, atingindo a estabilidade em aproximadamente 6 horas de secagem.

Na Figura 4, na qual é apresentada a influência do tempo de imersão na solução osmótica sobre a cinética de secagem, confirmou-se que, quando utilizada a solução de 30 °Brix (Figura 4a), o tempo de imersão de 6 horas não é eficaz para diminuição do tempo de secagem, não apresentando desidratação significativa da fruta durante o pré-tratamento osmótico. Comparando com a curva de secagem da fruta *in natura* observa-se ainda pouca influência sobre a cinética de secagem. Entretanto, para o tempo de imersão de 24 horas, ocorreu uma diminuição da umidade considerável durante a etapa osmótica, bem como afetou favoravelmente a velocidade de secagem. Para a solução de 50 °Brix (Figura 4b), os dois tempos de imersão influenciaram favoravelmente a cinética quando comparado com a curva de secagem *in natura*, não apresentando diferenças significativas entre si.

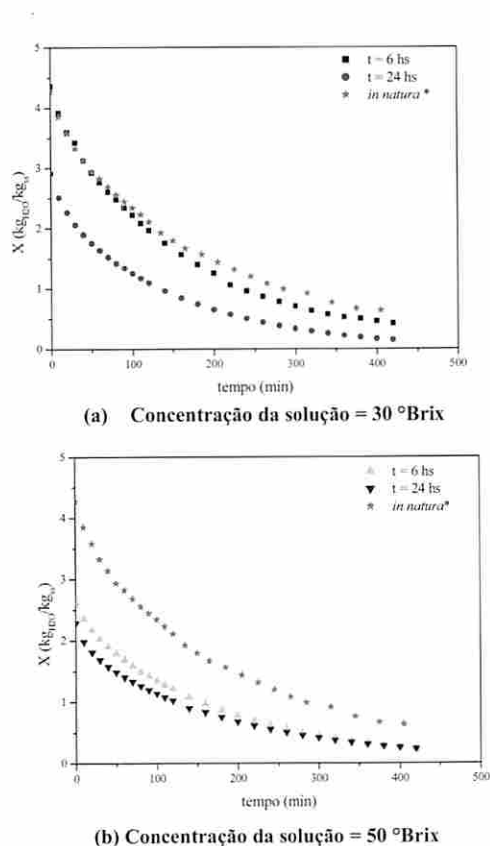


Figura 4. Influência do tempo de imersão na solução osmótica no perfil de umidade da fruta da palma nas condições: $T = 57\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $v = 1,15\text{ m/s}$
*Cavalcante *et al.* (2006): $T = 57\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $v = 1,15\text{ m/s}$

CONCLUSÕES

Verificou-se que o pré-tratamento osmótico é eficaz na redução do tempo de secagem convectiva. A solução com 50 °Brix apresentou os melhores resultados, com uma redução de aproximadamente 2 horas no tempo necessário para obter uma fruta com umidade final em torno de $1\text{ kg}_{\text{H}_2\text{O}}/\text{kg}_{\text{ss}}$, mesmo com tempo de imersão de apenas 6 horas. É possível ainda obter bons resultados com concentrações menores, desde que se aumente o tempo de imersão, como observado no presente trabalho onde, com a solução de 30 °Brix os resultados foram equivalentes aos de concentração de 50 °Brix com tempo de imersão de 24 horas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Paraíba (FAPESQ) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), o apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cantwell, M. Manejo pós-colheita de frutas e verduras de palma forrageira. In: Barbera, G., Inglese, P., Barrios, E. P. Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira. Paraíba: SEBRAE, 2001. cap 14, p. 123-139.
- Cavalcante, J. A., Alsina, O. L. S., Vieira, D. A. Analysis of the drying process of prickly pear (*Opuntia Ficus Indica*) - Experimental study. In: 15th International Drying Symposium (IDS), 2006. CD rom
- Corbo, M. R., Altieri, C., D'amato, D., Campaniello, D., Del Nobile, M. A., Sinigaglia, M. Effect of temperature on shelf life and microbial population of lightly processed cactus pear fruit. *Postharvest Biology and Technology*, v. 31, n. 1, p. 93-104, 2004
- Galati, E. M.; Monforte, M. T.; Tripodi, M. M.; D'aquino, A.; Mondello, M. R. Antulcer activity of *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. (Cactaceae): ultrastructural study. *Journal Ethnopharmacology*, v. 76, n.1, p. 1-9, 2001.
- Giraldo, G., Vazquez, M. E., Martín-Esparza, Chirald, A. Rehydration Kinetics and soluble solids lixiviation of candied mango fruit as affected by sucrose concentration. *Journal of Food Engineering*, v. 77, p. 825-834, 2006.
- Medeiros, C. D., Cavalcante, J. A., Alsina, O. L. S. Estudo Preliminar da desidratção osmótica da fruta da palma (*Opuntia ficus indica* Mill). In: XXXII Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados (ENEMP), 2006. CD rom.
- Park, K. J., Bin, A., Brod, F. P. R. Obtenção das isotermas de sorção e modelagem matemática para a péra bartlett (*Pyrus sp.*) com e sem desidratção osmótica. *Ciências e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 21, n. 1, p. 73-77, 2001.

ESTUDIO DEL SECADO CONVECTIVO DE *Capsicum annuum* VARIEDAD POBLANO.

Lidia Dorantes- Álvarez, Alicia Ortiz-Moreno, Karla Juárez- Meneses, Gustavo Gutierrez-López
 INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
 ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
 DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA. GRADUADOS ALIMENTOS
 Plan de Ayala y Carpio. Col. Sto. Tomás, Delegación Miguel Hidalgo CP 11340.
 México, D. F. 57296000 EXT. 62467.

Palabras clave: secado, microondas, *Capsicum annuum*, carotenoides, fractal

RESUMEN

Existe un interés de los productores y consumidores de *Capsicum annuum* por el contenido y conservación de los nutraceuticos que estos vegetales contienen. El objetivo del presente trabajo fue investigar como afectan procesos, como el escaldado y el secado, al contenido de carotenoides. Además el conocimiento del cambio de dimensión fractal por medio de análisis de imagen se ha correlacionado con la estructura de los tejidos vegetales y como consecuencia con sus características como alimento.

En el desarrollo experimental se evaluaron durante el secado: los carotenoides y la dimensión fractal, en chiles previamente escaldados mediante el método convencional y con microondas. También se determinaron las cinéticas de secado

Los resultados mostraron que en el primer periodo de velocidad constante de secado hay una tendencia en los chiles a presentar un incremento en los carotenoides extraíbles. Este comportamiento fue más acentuado en los chiles escaldados convencionalmente. Sin embargo conforme aumenta el tiempo de secado después de los 50 minutos, la tendencia es a volver a su contenido original, probablemente debido al colapso de las estructuras celulares. Además se observó que la dimensión fractal de chile poblano escaldado convencionalmente es mayor con respecto a las muestras de chile tratadas con microondas.

INTRODUCCIÓN

El chile es consumido principalmente en los países tropicales y semitropicales, sin embargo su consumo se ha venido incrementando por la migración de población hacia países nórdicos. México es el centro de la diversidad genética de *Capsicum annuum*, de allí la enorme variación en los tipos, tamaños, colores, sabores y pungencia de sus frutos. Una de las variedades más consumidas en México es el chile poblano que es utilizado para la preparación de diversos platillos tradicionales. Sin embargo su producción es estacional por lo que es de interés estudiar su conservación a través de tratamientos como el escaldado y el secado; obteniendo una vida de anaquel mucho más larga.

El escaldado es un proceso térmico que puede ser realizado tratando con vapor, o sumergiendo los vegetales en agua caliente, o en soluciones que contengan ácidos y sales en este último caso se pierden se pierden nutraceuticos y vitaminas hidrosolubles durante el tratamiento, por lo que se ha propuesto el uso de las microondas para realizar dicho escaldado. El escaldado se lleva a cabo antes del congelado, del freído, el enlatado y el secado. El principal propósito de este proceso es inactivar los sistemas enzimáticos que pueden causar cambios en textura, sabor y color, tales como peroxidasa, polifenoloxidasa, lipoxigenasa y enzimas pecticas. La eficiencia del proceso de escaldado está usualmente basada en la inactivación de una de las enzimas

más resistentes al calor como es la peroxidasa. (Dorantes, 2005)

El secado es básicamente un proceso combinado de transferencia de masa y de calor simultáneo, en los alimentos disminuye el agua disponible para las reacciones enzimáticas y químicas de vegetales, así como para el crecimiento de microorganismos no deseables en alimentos.

La interpretación matemática de los fenómenos bioquímicos o de ingeniería de alimentos no siempre es sencilla, ya que depende de factores múltiples y de cinéticas complicadas y auto-reguladas. Es por ello que Gutiérrez y col. 2006 han propuesto el uso de los fractales para la interpretación de algunos fenómenos en alimentos.

Siendo los chiles (*Capsicum annuum*) un importante cultivo histórico y económico para los productores mexicanos, el presente trabajo se estudiaron los cambios durante el secado después del escaldado convencional y con microondas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Escaldado de los chiles. Se realiza la limpieza externa de los chiles y se remueven las semillas y la parte central. Los chiles se cortan en trozos de 1 cm². Para el método convencional estos segmentos se sumergen en agua a 65°C durante 3 minutos, posteriormente se enfrían por inmersión en agua a 10°C por 3 minutos. Las muestras obtenidas de esta forma se someten a un proceso de secado. Para el escaldado en microondas se colocan los segmentos de chile en el plato del microondas. Se usa una combinación de tiempo y nivel de potencia que resulte en condiciones similares a las usadas en el escaldado convencional. Previamente se realizan pruebas en las que se mide la temperatura de la superficie de los chiles durante el tratamiento con microondas, a distintos niveles de potencia, hasta encontrar las condiciones adecuadas. Para esta prueba, se utilizó un microondas marca Samsung.

Secado convectivo Se obtienen trozos de chile de 1 cm², estos trozos se someten a un proceso de secado convectivo en un secador de túnel experimental, utilizando una temperatura de bulbo seco (T) de 60°C y velocidades aire de secado (u) de 2 m/s. Se empleó un secador de flujo paralelo, diseñado en la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas en el Departamento de Graduados en Alimentos. Está compuesto por un túnel de 90 cm de longitud y de 4X12cm en el extremo distal.

Determinación de carotenoides. Tomar 3 muestras de 1 gramo cada una, previamente trituradas con 20 mL de acetona enfriada a 5 °C. Filtrar al vacío a través de un embudo Buchner usando papel filtro No.1 de 10 cm de diámetro (Whatman).El residuo se usa nuevamente para extraer carotenos con acetona más fría (20 mL).

Los pigmentos en el filtrado combinado son transferidos a éter de petróleo en un embudo de separación y se le adiciona agua, se agita suavemente extrayendo la fase etérea y desechando la acuosa.

A la fase etérea, se le realizan de 4 a 5 lavados con agua para eliminar la acetona residual.

La muestra extraída se deposita en un matraz aforado. Llevar al volumen "x" con éter de petróleo.

Llevar los demás extractos al mismo volumen.

Utilizar el espectrofotómetro y leer a 450 nm.

Aplicar la siguiente fórmula:

$$x(\mu\text{g}) = (A * y * 10^6) / (A\%_{\text{cm}} * 100)$$

Donde:

x: concentración de carotenoides
 y: volumen de la solución que da una absorbancia de A en una longitud de onda específica (mL)
 $A\%_{\text{cm}}$: es el coeficiente de absorción del carotenoide en el solvente usado, según especificaciones.
 (Rodríguez Amaya, 1997)

Análisis de imágenes. Para la determinación de la dimensión de objetos fractales, primero se debe recurrir al análisis de imágenes, después se continúa con el uso de técnicas tales como el método de conteo de cajas (al usar cuadros o cubos como patrón de medición). Luego entonces se pueden considerar mediciones a pequeños ángulos en imágenes de gran detalle y continuar analizando los mismos ángulos pero disminuyendo el detalle o la escala (o la resolución) de la imagen con la que se cuenta.

El modelo que hasta ahora ha proporcionado consistentemente los mejores resultados para cuantificar la forma de cualquier objeto es la dimensión fractal. (Lira, 2002).

Se utilizó Chile variedad Poblano, obtenida del INIFAP Zacatecas, cortado en placas de 1 cm para realizar el escaldado por los métodos convencional y con microondas. Posteriormente se realizó el proceso de secado conectivo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las condiciones de operación para el secado de las muestras de Chile fueron: La velocidad del aire se reguló a 2m/s y la temperatura del aire en el secador fue de 60 °C. Se obtuvo la cinética de secado. Esto se realizó tomando muestras en diferentes tiempos y determinando su humedad. En la Figura 1 se presenta los resultados obtenidos para el Chile escaldado con microondas. La humedad inicial de la muestra escaldada con microondas fue de 84.1%, menor a la determinada para el Chile sin escaldar. El tiempo total de secado fue de 110 minutos.

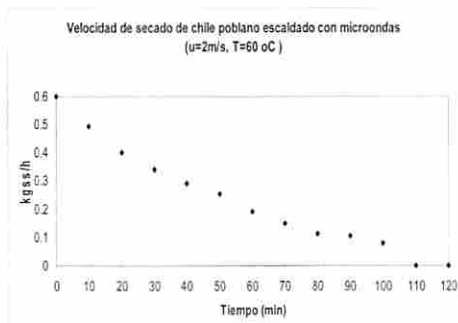


Figura 1. Velocidad de secado de Chile poblano escaldado con microondas

La humedad para la muestra escaldada por el método convencional fue de 91.9%, resultando semejante a la muestra fresca. El tiempo total de secado fue de 130 minutos. La diferencia en el tiempo de secado, entre las muestras escaldadas convencionalmente y con microondas se debe a que en este último proceso no se emplea agua para el escaldado. La cinética de secado para el Chile escaldado convencionalmente se presenta en la Figura 2.

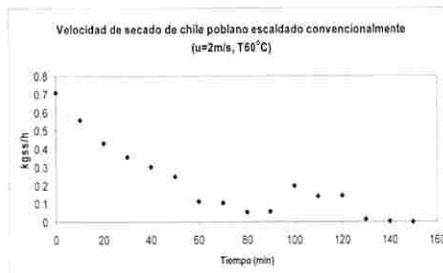


Figura 2. Velocidad de secado de Chile poblano escaldado convencionalmente.

En la Figura 3 se muestra el contenido de carotenoides evaluado en el Chile poblano. Se observa que en el primer periodo de velocidad constante hay una tendencia en los Chile a presentar un incremento en los carotenoides extraíbles. Sin embargo, conforme aumenta el tiempo de secado la tendencia es a disminuir, debido al colapso de las estructuras celulares. Para el caso de las muestras pretratadas con escaldado con microondas, la mayor cantidad de carotenoides extraíbles se presentó a los 40 minutos de secado, y para las muestras pretratadas con escaldado convencional a los 30 minutos.

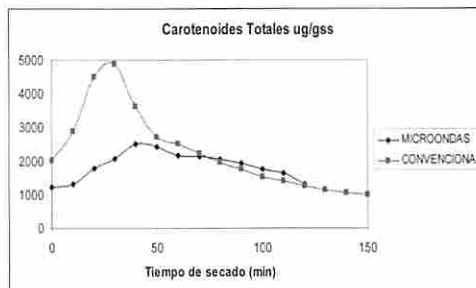


Figura 3. Concentración de carotenoides totales en las muestras previamente escaldadas.

Se ha demostrado en nuestro departamento, que la pasteurización puede hacer más disponibles a los carotenoides de Chile y zanahoria lo que coincide con los resultados obtenidos en este trabajo, durante la primera etapa del secado.

Se recurrió al análisis de imágenes y fractal para evaluar la irregularidad de las piezas de Chile sometidas a los diferentes tratamientos. La determinación del valor de la dimensión fractal se realizó a través del método de conteo de cajas (método de Richardson) (REF), a través del programa Image J. Asimismo, se evaluó el valor de la dimensión fractal utilizando el método de relación área/perímetro (REF). Obteniéndose las siguientes dimensiones fractales.

La relación de la dimensión fractal con respecto al tiempo en ambos tratamientos se muestran en las figuras 4 y 5. A pesar de que ambos métodos son diferentes presentan la misma tendencia. Se puede observar que existe un comportamiento similar oscilatorio en ambos casos, lo cual indica que la muestra presentó periodos de deformación-recuperación en forma cíclica, debido a las condiciones de proceso.

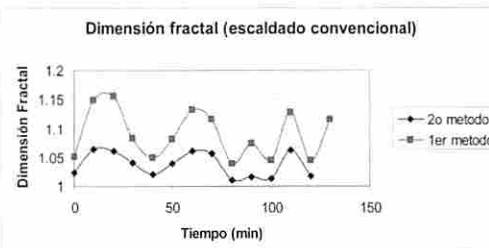


Figura 4. Dimensión fractal de las muestras sometidas a escaldado convencional.

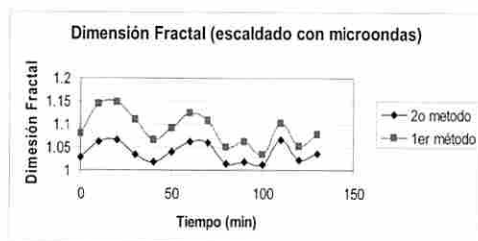


Figura 5. Dimensión fractal de las muestras sometidas a escaldado con microondas.

CONCLUSIONES Al dar un tratamiento de escaldado con microondas, se reduce la actividad de agua del chile, por lo tanto, el proceso de secado dura 20 minutos menos que al ser tratadas con un escaldado convencional.

Se observó un incremento en la cantidad de carotenoides totales durante el primer periodo de velocidad constante durante el secado. Esto se observó en las muestras escaldadas con microondas y convencionalmente.

La dimensión fractal de chile poblano escaldado convencionalmente es mayor con respecto a las muestras de chile tratadas con microondas lo que indica un mayor cambio en la microestructura del tejido en esas muestras.

RECONOCIMIENTOS

Este trabajo fue desarrollado dentro del proyecto del SIP 2006 "Fitoquímicos en la tecnología de alimentos", financiado por el Secretaría de Investigación y Posgrado del Instituto Politécnico Nacional (IPN) México.

REFERENCIAS

Dorantes-Álvarez L (2005). Cap. 19: Blanching using microwave processing. The microwave processing of foods. Cambridge, England. Edit. CRC Press. p. 153.

Gutiérrez-López GF (2006) "Characterization of Food Products Surfaces during drying using fractal geometry". En: Water Properties of food, pharmaceutical, and biological materials. Ed. Buera M.P. Taylos & Francis.

Lira Chávez J (2002). Introducción al tratamiento digital de imágenes. Fondo de Cultura Económica México, D.F.

Rodríguez – Amaya D, A guide to carotenoid analysis in foods. USA, 1999

ESTUDIO DEL EFECTO DE LA APLICACIÓN DE GOMA ARÁBIGA Y CULTIVOS PROBIÓTICOS (*L. CASEI*) POR INYECCIÓN E IMPREGNACIÓN SOBRE LA TEXTURA DE QUESO FRESCO

Lopez_Arturo, Felipe Caez_Ramírez, Gabriela.

UNIVERSIDAD DE LA SABANA

FACULTAD DE INGENIERÍA

Km 21 Autop Norte de Bogotá, D.C. e-mail: gabriela.caez@unisabana.edu.co

Chía - Colombia

Palabras clave: Procesamiento de alimentos, probiótico, queso fresco, goma arábica, análisis de textura.

RESUMEN

Se evaluó el efecto de la aplicación de goma arábica y de cultivos probióticos (*L. Casei*) por dos métodos: inyección e impregnación, sobre la textura final de un queso fresco. Para la elaboración del cultivo láctico, se usó *Lactobacillus casei* de una cepa comercial proporcionada por la Universidad de la Sabana, que se activo usando como medio leche entera UHT. El conteo microbiológico se realizó por conteo en placa en MRS y en la evaluación de textura, se aplicó un análisis de perfil de textura (TPA), obteniendo valores de fracturabilidad, firmeza, elasticidad, gomosidad, masticabilidad y cohesividad. Los resultados arrojaron que no hay ningún efecto por la aplicación de goma arábica y del método de impregnación de cultivos probióticos sobre el recuento final de microorganismos, obteniéndose para todos los casos, quesos con probióticos. Sin embargo, el queso sin goma dio el nivel más alto de probióticos debido a que la goma reduce la actividad de agua y este es un factor importante para la viabilidad del microorganismo. En relación a la textura, esta se ve afectada significativamente por la concentración de la goma.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad se está dando una revolución hacia alimentos funcionales, que aporten la mayor cantidad de nutrientes, sin adición de preservantes, dentro de estos productos se encuentran los alimentos probióticos.

En la utilidad clínica de los probióticos Morelli (2004) reportó que los probióticos aumentan la eficacia contra rotavirus y diarrea asociada a antibióticos, además de esto Castro (2006) reporta otros beneficios como prevención de la diarrea del viajero, vaginitis, infecciones urinarias, alergias a los alimentos, reacciones atípicas a los niños, y reducen los efectos de la intolerancia a la lactosa.

Para la determinación de un producto probiótico existen diferentes concentraciones en las cuales debe estar presente el microorganismo considerado como probiótico; según Vinderola (2000) la concentración debe ser mayor igual a 10⁶ UFC/ml-gr. Por otra parte la Fermented Milks and Lactic Acid Bacteria Beverages Association determina que un alimento probiótico debe contener concentraciones de microorganismos mayor igual a 10⁷ UFC/gr-mL. Los microorganismos clasificados como probióticos son *Lactobacillus* y bifidobacterias, debido a que estas bacterias resisten los bajos pH presentes en el estómago, las sales biliares, la capacidad de adherirse al intestino y finalmente sean viables en el producto; ya en el intestino estos proporcionan beneficios González (2001) reporta: competencia por los sitios de adherencia, estimulan el sistema inmunológico, excretan antimicrobianos, aumentan los niveles de beta galactosidasa fecal y otras enzimas bacterianas; ayuda a la producción de diferentes nutrientes y ácidos grasos de cadena corta, regulan las concentraciones y metabolismo del colesterol. Dentro de las bacterias probióticas usadas comúnmente se tienen: *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. casei* spp *rhamnosus*, *L. delbrueckii* spp *bulgaricus*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *Lactococcus lactis* spp *lactis*, *Lactococcus lactis* spp. *cremoris*, entre otros.

Vinderola (2000) reporta que existe facilidad del queso fresco para trasportar microorganismos probióticos, haciendo que el queso con cultivos probióticos adquiera los beneficios que los microorganismos generan.

La adición de gomas en alimentos presenta un cambio en la textura y es usado como sustituto de otros ingredientes o como en el caso de los quesos para la disminución de grasa en productos light, este cambio se hace para economizar, mejorar textura, o encapsular algunos sabores y aromas sin disminuir la calidad del producto. Se han realizado estudios en donde las gomas no solo cumplen con esta función sino que mejoran la viabilidad de los microorganismos probióticos en el queso. Pavan,(2005) reportó que al agregar goma de algarrobo a queso tipo cheddar mantuvo por cinco semanas más la viabilidad de *Lactobacillus acidophilus* que la de un queso con la misma concentración inicial de microorganismos pero sin goma. En este caso la goma actúa como un prebiótico, según Gibson (2004) un prebiótico es una sustancia de un alimento que no es digerible por el huésped que trae beneficios en el metabolismo de unos microorganismos específicos pertenecientes a la microflora en el tracto digestivo.

Según la legislación colombiana se denomina un queso fresco aquel queso que después de su fabricación está listo para el consumo humano y permite la adición de cultivos ácidos lácticos.

El propósito de este estudio es evaluar el efecto de la aplicación de goma arábica y de cultivos probióticos (*L. Casei*) por dos métodos: inyección e impregnación, sobre la textura final de un queso fresco.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Materiales.

Para la elaboración de los quesos se empleó leche cruda fresca, goma arábica comercial, renina Maxiren®, CaCl₂ y sal común. Para la preparación del cultivo se utilizó *Lactobacillus casei* proveniente de una cepa de la Universidad de La Sabana como microorganismo probiótico y leche entera UHT como medio de cultivo. Para el recuento microbiológico se usó agar MRS y agua peptonada al 1%. Cada tratamiento se evaluó con tres replicas y para cada una de las muestras se determinó, el contenido de microorganismos probióticos y la textura mediante un TPA

Métodos

Elaboración del queso.

La leche cruda se sometió a un proceso de calentamiento a una temperatura de 90°C durante una hora para disminuir la carga bacteriana; posteriormente se le redujo la temperatura hasta 38°C, temperatura recomendada por el fabricante del cuaje para su uso. Al queso obtenido se aplicó un proceso de salado, aplicando una salmuera al 2% durante 24 h. con un proceso de prensado manual.

La aplicación de la goma arábica se realizó durante el proceso de elaboración del queso. Se adicionaron dos concentraciones diferentes de goma: 0.5gr/L (G1) y de 0.33gr/L (G2) y sin goma (B). Adicionalmente a los tres tipos de quesos se les agregó aproximadamente 0.12 gr/L CaCl. Al finalizar el desuerado se le midió el pH. y el peso final para calcular el rendimiento .

Elaboración del cultivo probiótico.

Para garantizar la inocuidad en nuestro cultivo se realizó todo el procedimiento en cabina de flujo laminar. En el proceso de activación del cultivo se empleo 200 ml leche entera UHT, en la cual se inoculo el *L. Casei* (proporcionado por la universidad de la Sabana), durante un 24 horas a 28°C. Después de la activación se tomo 1mL del cultivo incubado en un erlemeyer con 500mL de leche, y se repitió el proceso de incubación por 24 horas a 28°C. Al terminar con la incubación la leche fermentada se centrifugo durante 20 min a 7000 rpm a una temperatura de 8°C y el sedimento se almaceno hasta su uso en refrigeración completamente sellado.

Adición de los cultivos al queso.

Para la inoculación de los quesos se usaron dos técnicas: por inyección directa e impregnación.

- a) En la inyección se realizo de forma manual y aleatoria con una jeringa estéril de 0.5mm de diámetro, se insertaba la aguja en el queso y en el momento de retirarla se iba inyectando el inculo; la inyección se hizo siempre en un solo sentido, este procedimiento se realizo de tal forma que quedara repartido lo mas homogéneo posible en todo el queso, hasta llegar a la concentración requerida.

A cada uno de los quesos realizados (G1, G2 y B), se aplico se aplico dos concentraciones de cultivo: 0.33mL/gr (L1), 0.3mL/gr (L2), y sin inculo B.

- b) La impregnación se efectúo mediante un pulso de vacío, con un tiempo de extracción de 3min y un tiempo en vacío de 27 min. en una campana de vacío (IM) debido a la forma de inocular con esta técnica no se pudo variar las cantidades de inculo.

Al final del proceso se obtuvieron 12 tratamientos, en cuales varia la concentración goma, de inculo y el tipo de aplicación del cultivo.

Test de textura.

Para cada muestra de queso obtenida de los tratamientos, se tomaron cuatro porciones de 5mm de diámetro, y se realizó un Analisis de Perfil de Textura (TPA) en el mismo sentido de la inyección; en el test se empleo un Texturómetro TX TA2 con una probeta cilíndrica de aluminio de 25 mm de diámetro, con una fuerza de 30.01N y una velocidad de 0.4 mm/s, obteniendo valores de fracturabilidad, firmeza, elasticidad, gomosidad, masticabilidad y cohesividad.

Conteo Microbiológico.

Se tomo aproximadamente 1 gramo de cada una de las muestras obtenidas de los tratamientos y se mezclo con 9ml de agua peptonada al 1% y se coloco durante 5 minutos en el Stomacher 400 a intensidad media. Después se realizaron siete series de diluciones y se realizo la siembra en agar MRS. Se incubaron a 37 °C durante 24 h. Luego se realizó el conteo en placa. Este procedimiento también se aplico al cultivo centrifugado.

Tabla 1. Resultados Análisis de Textura.

Propiedad		Tipo de queso										
		G1-L1	G1-L2	G1-b	G1-IM	G2-L1	G2-L2	G2-IM	B-L1	B-L2	B-b	B-IM
Fracturabilidad	Media	172,24	137,75	360,51	192,57	142,20	77,32	54,21	187,72	161,25	124,00	49,97
	Desv	11,77	9,43	43,55	191,02	19,71	10,32	12,51	14,04	18,54	126,26	5,51
Firmeza	Media	203,46	210,63	460,87	238,28	188,47	88,04	58,65	249,46	181,71	188,00	57,99
	Desv	17,94	25,45	84,78	233,06	43,81	17,31	14,71	6,52	17,36	112,75	17,76
Cohesividad	Media	0,46	0,43	0,47	0,45	0,38	0,35	0,42	0,43	0,46	0,47	0,48
	Desv	0,03	0,04	0,04	0,01	0,06	0,08	0,06	0,04	0,04	0,02	0,13
Elasticidad	Media	0,91	0,83	0,91	0,84	1,01	0,99	0,97	0,95	0,95	0,94	1,40
	Desv	0,12	0,05	0,10	0,89	0,26	0,11	0,12	0,05	0,09	1,17	0,89
Masticabilidad	Media	84,71	75,38	196,76	91,10	72,28	30,54	23,71	101,42	80,52	80,25	38,88
	Desv	18,78	10,05	11,22	92,57	27,82	6,85	9,06	16,59	15,53	62,57	38,98
Gomosidad	Media	92,58	90,63	215,99	108,52	71,77	30,87	24,48	106,46	84,33	85,46	27,85
	Desv	12,00	17,82	24,32	104,11	7,52	4,23	9,08	12,53	15,14	53,40	7,07

RESULTADOS.

Elaboración del queso.

Se obtuvo en promedio un rendimiento del queso fresco de 12.11% con una varianza de 0.21 y un pH inicial promedio de 6.47 con una varianza de 0.13. Lo cual coincide con Espinal (1995) quien da un rango de pH entre 6.4 y 6.5 para el cuajo en el momento del corte del coagulo y un rendimiento promedio de 12.69% el cual varia dependiendo de la humedad en el producto final y en la calidad de la leche.

Análisis de textura.

La tabla 1 muestran los resultados del test de textura, APRA cada una de las muestras obtenidas de los tratamientos. Se realizo análisis de varianza ($\alpha= 0.05$) para cada una de las variables: fracturabilidad, firmeza, masticabilidad, cohesividad, gomosidad y elasticidad. En la tabla 1, se observa que la muestra G1 presenta los mayores valores para todas las variables, asimismo se evidencia que la impregnación del cultivo probiótico realza el efecto de la goma.

En todos los quesos dio como resultado que no hay diferencia significativa ($\alpha=0.05$) entre las replicas y entre los tratamientos solo la cohesividad y elasticidad dieron que no hay diferencia significativa entre los quesos. En la figura 1 se puede observar que todos los quesos tienen el mismo

comportamiento siendo atípicos G1-L1 ,B-Im, y G2-L2, de manera similar la figura 2 muestra como todos los quesos están dentro de un mismo rango y por tal razón no hay diferencia entre los quesos. Contrario a esto Ramos (2006) reporta que se necesita menor esfuerzo cortante para el queso crema con probióticos e inulina y esto se debe a que la inulina aumenta la retención de agua.

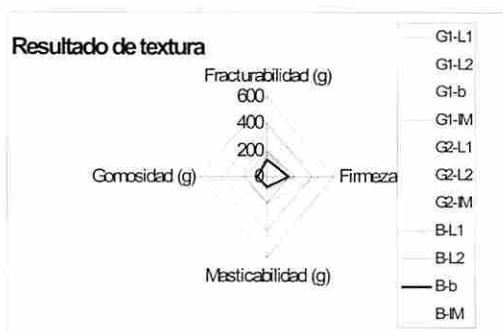


Figura 1. Diagrama de red de resultados análisis de textura.

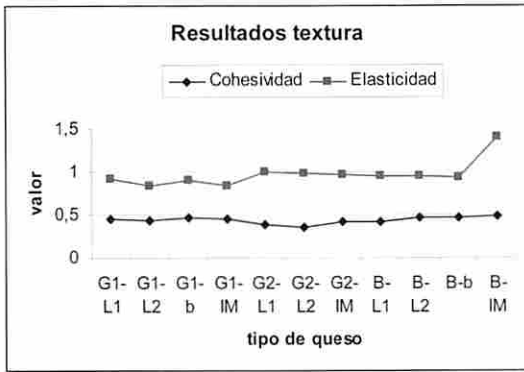


Figura 2. Dispersión de los valores de cohesividad y elasticidad.

Conteo Microbiológico.

La tabla 2, muestra los resultados obtenidos de los diferentes quesos. El conteo del cultivo centrifugado fue de 4.2×10^{11} UFC/ml lo cual muestra según las diferentes definiciones que el queso fue inoculado con cultivos probióticos. En el conteo microbiológico se obtuvo como resultado que el mejor tratamiento fue en queso sin goma con la concentración L1, ya que este tiene el mayor contenido de probióticos. Sin embargo al realizar un análisis de varianza con $\alpha=0.05$, no se encontró diferencia significativa entre las diferentes formas de agregar el cultivo, además no existe diferencia significativa entre las variaciones de las concentraciones de las gomas. Pavan,(2005) reporta la cantidad inicial en queso probiótico y simbiótico alrededor de 10^{12} UFC y en la segunda semana el queso probiótico baja en el recuento hasta 10^8 y el simbiótico se mantiene por el orden de 10^{11} , valores que están por encima de los obtenidos.

Tabla 2 resultados recuento microbiológico.

Concentración goma	Probiótico		
	L1 (UFC/gr)	L2 (UFC/gr)	IM (UFC/gr)
G1	1,70E+09	1,40E+09	1,30E+09
G2	1,80E+09	1,80E+09	1,90E+09
B	2,30E+09	2,20E+09	9,30E+08

CONCLUSIONES.

Los resultados arrojaron que no hay ningún efecto por la aplicación de goma arábica y del método de impregnación de cultivos probióticos sobre el recuento final de microorganismos, obteniéndose para todos los casos, quesos con probióticos. Sin embargo, el queso sin goma dio el nivel más alto de probióticos debido a que la goma reduce la actividad de agua y este es un factor importante para la viabilidad del microorganismo. En relación a la textura, esta se ve afectada significativamente por la concentración de la goma.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de la Sabana - Facultad de Ingeniería, docentes, auxiliares de laboratorio, por el apoyo incondicional prestado para la realización de este proyecto .

REFERENCIAS.

- Castro, L. y Rovetto, C. 2006. Probióticos: utilidad clínica. Colombia Médica, vol 37 N°4 :308-314
- Espinal, C., Barrera, E., Almanza F.1995. Manual de elaboración de queso campesino y prensado. Universidad Nacional de Colombia Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos.
- Gibson, G.R., Probert, H.M., van Loo, J.A.E., Rastall, R.A. and Roberfroid, M.B. 2004. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Updating the concept of prebiotics. Nutrition Research Reviews 17, 259-275.
- González Rivas ,F y González Martínez,B. 2006 criterios de calidad de los microorganismos probióticos y evidencias sobre efectos hipocolesterolémicos disponible en : <http://www.respyn.uanl.mx/vii/1/ensayos/criterios.htm> , consultado 25 de julio 2007
- Morelli, L. 2004. "Taxonomía y fisiología de las bacterias acidolácticas. Efectos y funciones en nutrición.". Instituto de Microbiología UCSC.
- Pávan ,A.; López ,A ; Morales, S. et al .2005 "Viabilidad de *Lactobacillus Acidophilus* en queso tipo cheddar en presencia de goma de algarrobo". VII congreso Nacional de ciencia de los alimentos y III foro de ciencia y tecnología de alimentos Guanajuato,Gto
- Ramos ,L; Gallardo, Y; Ortega ,O; et al 2005."Elaboración de queso crema Probiótico (*L. casei*), bajo en grasa, adicionado con Inulina y Saborizado". VII congreso Nacional de ciencia de los alimentos y III foro de ciencia y tecnología de alimentos Guanajuato,Gto
- Vinderola, C. G., Prosello, W., Ghiberto, D. y Relcheimer J.A. 2000. "Viability of probiotic(*Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and Nonprobiotic Microflora in Argentinian Cheese.". Journal of Dairy Science 83: 1905-1911.

EFECTO DEL TRATAMIENTO TÉRMICO SOBRE LA DEGRADACIÓN DE LA CLOROFILA Y LA PÉRDIDA DE COLOR EN UNA MEZCLA DE VEGETALES.

Casas_Forero, Nidia, Sotelo_Díaz, Indira, Caez_Ramírez, Gabriela
UNIVERSIDAD DE LA SABANA
FACULTAD DE INGENIERÍA

Km 21 Autop Norte de Bogotá, D.C. e-mail: gabriela.caez@unisabana.edu.co
Chía - Colombia

Palabras clave: Procesamiento de alimentos, clorofila, color, tratamiento térmico, vegetales

RESUMEN

Se evaluó el efecto de la aplicación de un pretratamiento de escaldado y cuatro tratamientos térmicos sobre la degradación de la clorofila y la pérdida de color en una mezcla de vegetales constituida por espinaca, zanahoria y papa (5:2:1). La aplicación del escaldado tiene un efecto significativo sobre la retención de la clorofila presentando una diferencia del 20% con las muestras sin pretratamiento; sin embargo los tratamientos térmicos no tienen efecto significativo sobre la degradación de la clorofila. En relación con los cambios de color de la mezcla de vegetales, éstos están directamente relacionados con los tratamientos térmicos. De las variables de color evaluadas, la más sensible es la coordenada a^* , la cual se incrementa con el tiempo de tratamiento, generando un cambio en el color: de verde saturado a un verde pálido, este cambio es menor en las muestras que fueron sometidas a escaldado, lo cual indica que la aplicación de este proceso ayuda a mantener el color del producto, esta diferencia es estadísticamente significativa (ANOVA $\alpha=0.05$). Al mismo tiempo se presentó un incremento en la luminosidad con el tiempo de tratamiento, haciendo de la mezcla de vegetales un producto más luminoso. Al correlacionar la coordenada a^* con el contenido de clorofila, se encontró que existe una relación directamente proporcional entre estas dos variables, la cual podría ser empleada para detectar cambios durante el procesamiento de materias primas vegetales verdes.

INTRODUCCIÓN.

Las clorofilas son los pigmentos responsables de las características de color verde de frutas y vegetales, son altamente susceptibles de degradación durante el procesamiento, implicando cambios de color en los alimentos (Schwartz & von Elbe, 1983). Las principales clorofilas en las plantas incluyen la clorofila a y b (Von Elbe & Schwartz, 1996), siendo la clorofila a, la menos estable térmicamente en comparación con la clorofila b (Canjura, 1991, Schwartz & Lorenzo, 1991, Schwartz & von Elbe, 1983, Koca, Koca et al. 2006)

Las clorofilas presentan muchas reacciones químicas y enzimáticas de degradación. Las acciones simultáneas de enzimas, oxígeno, luz y calor puede llevar a la formación de un gran número de productos de degradación, entre los cuales esta la conversión de clorofila en feofitinas y pirofeofitinas, cuyo resultado genera un cambio de color verde a verde oliva pálido o amarillo oliva, el cual es percibido por el consumidor como una pérdida de calidad (Koca et al. 2006, Nisha et al. 2004).

Los cambios en el color de los alimentos verdes procesados parecen estar relacionados con el contenido de clorofila y el efecto producido por los tratamientos térmicos aplicados en función de la temperatura, el tiempo, el pH, etc. El efecto de la temperatura ha sido ampliamente estudiado por muchos investigadores y en varios productos Shivhare et al. (2000) en okra; Steet y Tong (1996) en habas; canjura et al (1991) en espinacas, Weemaes et al. (1999) en brócoli. En todos los casos se considera una cinética de degradación de primer orden describiéndose la dependencia de la temperatura con un modelo de Arrhenius, con energías de activación que variaron entre 15 y 22 Kcal/mol. A fin de preservar la clorofila durante los tratamientos térmicos se ha trabajado en: la aplicación de un control de pH, procesamiento con altas temperaturas y cortos tiempos o una combinación de altas temperaturas y cortos tiempos con ajuste de pH (Koca et al. 2006).

Siendo el color es una de las principales características sensoriales en la determinación de la calidad final de un proceso térmico de vegetales verdes (Koca et al. 2006). El sistema CIELab permite representar el color de frutas y vegetales en términos de los valores de L, a^* y b^* o la combinación de estos tres dependiendo de la naturaleza del pigmento presente en el alimento. (Barrett et al, 2000; Gnanasekharan et al, 1992; Gunawan & Barringer, 2000). El valor de la coordenada a^* ha sido empleado como un parámetro físico que representa la medida del color verde (Cano & Marin, 1992; Weemaes et al., 1999). Adicionalmente otros investigadores (Gunawan & Barringer, 2000; Hayakawa & Timbers, 1977) han monitoreado los cambios en el contenido de clorofila por la relación $-a/b$ para guisantes verdes enlatados, habas verdes enlatadas y brócoli escaldado y congelado, respectivamente.

Un estudio desarrollado por Weemaes et al, 1999 sobre la cinética de la degradación de la clorofila y la pérdida del color en jugo pasteurizado de brócoli demuestra la ventaja de una medida objetiva del color, para estudiar la degradación de la clorofila respecto a un análisis químico convencional y el punto de vista de los consumidores, en donde el color verde es más importante que el contenido residual de la clorofila.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del escaldado y 4 tratamientos térmicos sobre el contenido de clorofila, las variables de color y la posible relación entre ambos, para una mezcla de vegetales.

MATERIALES Y MÉTODOS.

Materiales

Una mezcla base homogeneizada de vegetales constituida por espinaca, zanahoria y papa (5:2:1) obtenidos del mercado local, se sometió a la combinatoria de los siguientes tratamientos térmicos: (A) Pretratamiento: (1) Escaldado a condiciones constantes de 92°C por 3 minutos a $\text{pH } 9 \pm 0.5$ (P) y (2) sin escaldar (SP); (B) Tratamiento térmico bajo dos condiciones de presión: (1) vacío a 20 mm Hg (TV) y (2) 560 mmHg (TSV); y bajo dos condiciones de tiempo (C): (1) 4 y (2) 6 min. Cada tratamiento se evaluó con tres replicas y para cada una de las muestras se determinó el contenido de clorofila y las variables de color.

Métodos.

Medición del contenido de clorofila.

La clorofila fue extraída de las muestras por la adición de 20 ml de acetona al 80% a 5 gr de producto (Canjura et al, 1991). La mezcla fue homogeneizada por 1 minuto empleando un Ultraturrax. La absorbancia del sobrenadante obtenido por centrifugación a 2500 rpm por 10 minutos se leyó a una longitud de onda de 662 y 645. (Dere et al, 1997). El contenido de clorofila a y b fue calculado acorde con Lichtenthaler (1985):

$$C_a = 11.75 A_{662} - 2.350 A_{645}$$

$$C_b = 18.61 A_{645} - 3.960 A_{662}$$

Medición del color.

La medición de color se realizó a través del análisis de imágenes. Se trabajó con iluminante D65, con un ángulo de inclinación de 45° entre las lámparas y la muestra, manteniendo un ángulo de 10° entre la muestra y el observador (Fernández et al., 2005). La imagen obtenida se analizó con el programa

Matlab 7.0 obteniendo las coordenadas CIELab: coordenada a*(+rojos, -verdes), coordenada b*(+amarillos,-azules), L*

luminosidad, cromancia $C^* = \sqrt{a^2 + b^2}$ y hue, $H^\circ = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right)$

RESULTADOS

Contenido de clorofila

En el tiempo 0 de la figura 1 se muestra el contenido de clorofila para las muestras con y sin escaldado, como pretratamiento. Los resultados evidencian una mayor retención de clorofila durante el proceso de escaldado bajo las condiciones empleadas, pues se mantiene la clorofila a, presente en la muestra inicial en un 74%, frente al 54% retenido para la muestra no escaldada. Esto es debido a que el pretratamiento inactiva la clorofilasa y otras enzimas responsables de la rápida pérdida de la clorofila y del color verde. (Koca, 2006, Negi 2000, Martins, 2002). En relación al tratamiento térmico se encontró que no hay diferencia significativa (ANOVA $\alpha=0.05$) entre la aplicación del tratamiento térmico a 20 mmHg y 560 mmHg para ambos tiempos. Sin embargo, el tiempo de aplicación del tratamiento presenta un efecto estadísticamente significativo (ANOVA $\alpha=0.05$) en la pérdida de clorofila, con una relación inversamente proporcional. El comportamiento de la clorofila b resulta igual para todos los casos analizados.

De acuerdo con los resultados obtenidos para la clorofila a y b, se determinó que la relación entre ellas es de 3:1 (a:b), es decir que el contenido de clorofila a presente en la muestra triplica a la clorofila b, lo cual concuerda con lo reportado por Von Elbe & Schwartz (1996), como relación general para los vegetales.

Evaluación del color.

El escaldado reduce la luminosidad en un 27% frente a la muestra no escaldada, aspecto que se observa para el tiempo cero de tratamiento térmico en la figura 2. Estadísticamente esta diferencia es significativa (ANOVA $\alpha=0.05$). Durante la aplicación de los tratamientos de térmicos la luminosidad se incrementa con el tiempo, haciendo de la mezcla de vegetales un producto más luminoso (figura 2).

La figura 3 muestra un incremento en el valor de la coordenada a* con el tiempo de tratamiento, generando un cambio en el color: de verde saturado a un verde pálido, este cambio es menor en las muestras que fueron sometidas a proceso de escaldado, lo cual indica que la aplicación de este tratamiento ayuda a mantener el color del producto, esta diferencia es estadísticamente significativa (ANOVA $\alpha=0.05$). Asimismo, se observa que el proceso de cocción a 20 mmHg conserva más mejor las características de color del producto frente al tratamiento a 560 mmHg

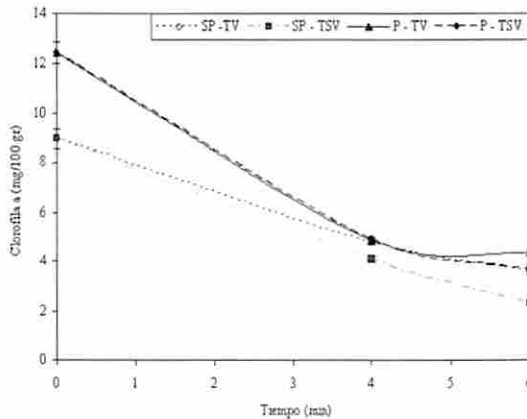


Figura 1. Degradación de la clorofila a con el tiempo de tratamiento.

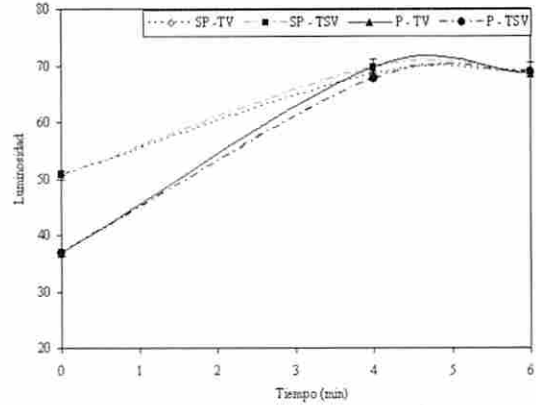


Figura 2. Cambio en la Luminosidad con el tiempo de tratamiento.

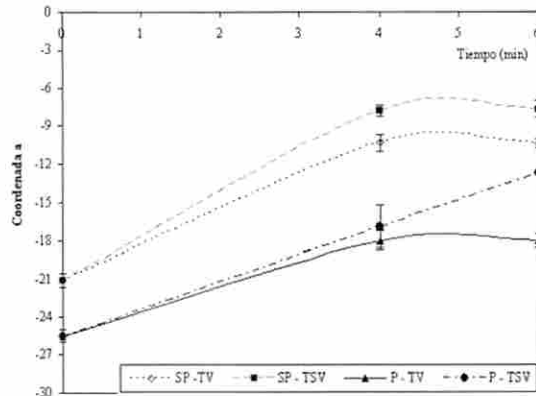


Figura 3. Cambio en la coordenada a* con el tiempo de tratamiento.

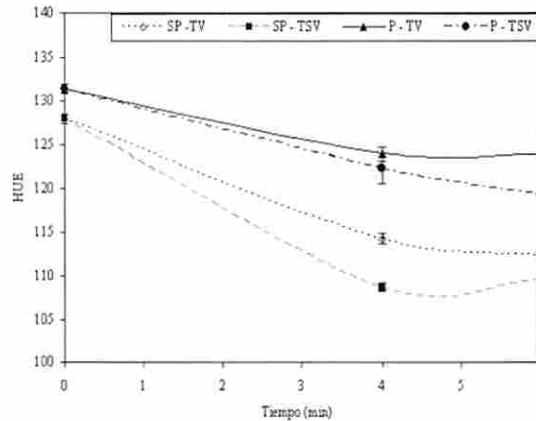


Figura 4. Cambio del tono (HUE) con el tiempo de tratamiento.

En la figura 4, se observa que para Hue, el empleo del pretratamiento en ambos casos presenta menor pendiente, indicando una menor velocidad de cambio en relación al tratamiento sin escaldado, siendo esta diferencia estadísticamente significativa (ANOVA $\alpha=0.05$). Este cambio de Hue se debe a una disminución del ángulo producto del incremento de la coordenada a*, con un efecto en la reducción del tinte verde y no al incremento del tinte amarillo en la coordenada b*, que no presenta diferencia significativa durante la aplicación de los tratamientos térmicos. El comportamiento en cromancia presenta la misma tendencia de Hue evidenciando el efecto del pretratamiento sobre el mantenimiento del tinte y la saturación de la mezcla de vegetales homogénea.

De acuerdo con lo anterior se puede inferir que por efecto de la aplicación del tratamiento térmico, el color de la mezcla de vegetales pasó de un color verde saturado: Luminosidad: 37, coordenada a*: -25, coordenada b: 28 a un verde pálido luminoso; Luminosidad: 69, coordenada a*: -7, coordenada b: 21 (figura 5).

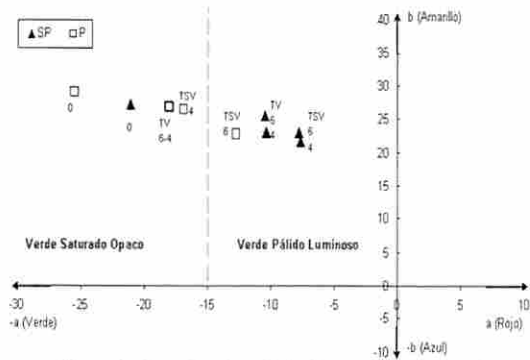


Figura 5. Mapa de color – Relación coordenada a* y b*

Relación contenido de clorofila a y Coordenada a*.

Al relacionar la coordenada a* y el contenido de clorofila a, se observa que existe un comportamiento lineal entre estas dos variables, con un coeficiente de correlación $r^2 > 0.94$ en todos los casos. En la figura 6, el avance del tiempo se observa de derecha a izquierda para todos los tratamientos. En el tiempo cero para el caso de las muestras sin pretratamiento se observa menor contenido de clorofila y menor magnitud de verde (a*), mientras que ocurre lo contrario para aquellas con pretratamiento con una diferencia de 28% y 17% respectivamente. Al avanzar el tiempo de tratamiento térmico las muestras con escaldado presentan menor pendiente generando al final del tratamiento una mezcla de-vegetales con un nivel de clorofila mayor y mayor color verde.

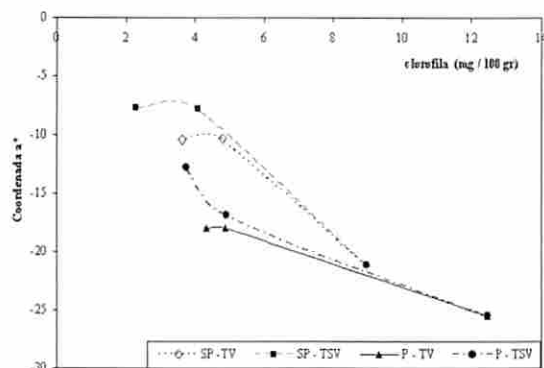


Figura 6. Relación de la coordenada a y el contenido de clorofila.

CONCLUSIONES

Los cambios presentados en el color y contenido de clorofila de la mezcla de vegetales son significativamente dependientes del uso de pretratamiento, del tratamiento térmico y del tiempo de aplicación del tratamiento. La variable de color más sensible al cambio es la coordenada a* que presenta una relación directamente proporcional al contenido de clorofila. La correlación de la pérdida de color con la reducción de la clorofila bajo las condiciones trabajadas podría ser empleada para detectar cambios durante el procesamiento de materias primas vegetales

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Fondo Patrimonial Especial de La Universidad de La Sabana por los recursos financieros proporcionados para el desarrollo de este proyecto.

REFERENCIAS

- Barrett, D. M., Garcia, E. L., Russell, G. F., Ramirez, E., & Shirazi, A. 2000. Blanch time and cultivar effects on quality of frozen and stored corn and broccoli. *J. Food Sci.*, 65, 534–540.
- Cano, M. P., & Marin, M. A. 1992. Pigment composition and color of frozen and canned kiwi fruit slices. *J. Agric. Food Chem.*, 40, 2141–2146.
- Canjura, F. L., Schwartz, S.J., and Nunes, R.V. 1991. Degradation Kinetics of Chlorophylls and Chlorophyllides. *J. Food Sci.* 56(6): 1639-1643.
- Dere S., Günes T., Sivaci R. 1998. Spectrophotometric Determination of Chlorophyll - A, B and Total Carotenoid Contents of Some Algae Species Using Different Solvents. *J. of Botany*, 22: 13-16
- Fernandez, L., Castellero, C., Aguilera, J.M. 2005. An application of image analysis to dehydration of apple discs. *J. of Food Engineering* 67: 185-193.
- Gnanasekharan, V., Shewfelt, R. L., & Chinnan, M. S. 1992. Detection of color changes in green vegetables. *J. Food Sci.*, 57: 149–154.
- Gunawan, M. I., & Barringer, S. A. 2000. Green colour degradation of blanched broccoli (*Brassica oleracea*) due to acid and microbial growth. *J. Food Processing and Preservation*, 24, 253–263.
- Hayakawa, K. I., & Timbers, G. E. 1977. Influence of heat treatment on the quality of vegetables: changes in visual green colour. *J. Food Sci.*, 42, 778–781.
- Koca, N., Karadeniz F., Burdurlu H. 2006. Effect of pH on chlorophyll degradation and colour loss in blanched green peas. *Food Chemistry* 100: 609–615
- Lichenthaler, H., Wellburn, A. 1985. Determination of Total carotenoides and chlorophylls A and B of leaf in different solvents. *Biol. Soc. Trans.*, 11: 591-592.
- Martins, R., Silva, C. 2002. Modelling colour and chlorophyll losses of frozen green beans (*Phaseolus vulgaris*, L). *International Journal of Refrigeration* 25: 966-974.
- Nisha, P., Singhal, R., Pandit, A. 2004. A study on the degradation kinetics of visual green colour in spinach (*Spinacea oleracea* L.) and the effect of salt therein. *J. Food Engineering* 64: 135-142.
- Schwartz, S. J., & Lorenzo, T. V. 1991. Chlorophyll stability during continuous aseptic processing and storage. *J. Food Sci.*, 56, 1059–1062.
- Schwartz, S. J. & von Elbe, J. H. 1983. Kinetics of chlorophyll degradation to pyropheophytin in vegetables. *J. Food Sci.*, 48, 1303–1306.
- Shivhare, U.S., Gupta, A., Bawa, A.S., and Gupta, P. 2000. Drying Characteristics and Product Quality of Okra. *Drying Technology*. 18(1&2): 409-419.
- Steet, J.A., and Tong, C.H. 1996. Degradation Kinetics of Green Color and Chlorophylls in Peas by Colorimetry and HPLC. *J. Food Sci.* 61(5): 924-927.
- Von Elbe, J. H., & Schwartz, S. J. 1996. Colorants. In O. R. Fennema (Ed.), *Food chemistry*: 651–722. New York: Marcel Dekker.
- Weemaes, C.A., Ooms, V., Van Loey, A.M., and Hendrickx, M.E. 1999. Kinetics of Chlorophyll Degradation and Color Loss in Heated Broccoli Juice. *J. Agric. Food Chem.*, 47: 2404-2409

ESTUDIO DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN PARA OBTENER PIÑA EN POLVO POR MEDIO DE UN SECADOR POR ASPERSIÓN A ESCALA LABORATORIO.

García-de la Cruz, Alfredo, Monroy Navarrete, Fabiola, Patiño Cortes, Enrique e Medina Mondragón Ismael.

ESCUELA SUPERIOR DE INGENIERÍA QUÍMICA E INDUSTRIAS EXTRACTIVAS-INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL.

Edificio 7, Unidad Profesional Adolfo López Mateos, C. P. 07738, e-mail: garmexter@gmail.com
MÉXICO, D. F. – MÉXICO

Palabras clave: procesamiento de alimentos, secado por aspersión, piña, rehidratación, metodología de superficie de respuesta.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue estudiar la influencia de las condiciones de operación (temperatura de entrada y salida del aire, velocidad del atomizador, gasto masa alimentado, etc.) para la obtención de la piña en polvo, con una alta eficiencia, un tiempo de solubilidad competitivo en el mercado y una mínima cantidad de humedad según especificaciones del producto final.

Se empleó un diseño experimental completo 2⁴ con cuatro puntos centrales para obtener las mejores condiciones de operación haciendo un total de 20 experimentos y se utilizó metodología de superficie de respuesta para saber cuales condiciones eran las mejores para la obtención de piña en polvo.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, una economía globalizada, mercados más grandes y la facilidad de la exportación, es necesario idear o perfeccionar métodos que nos permitan conservar por más tiempo algunos tipos de alimentos durante su transporte o bien en los anaqueles de los comercios para su venta.

Se eligió la piña por ser una fruta rica en azúcares y para el caso del secado por aspersión, este tipo de alimentos causan una serie de problemas durante su procesamiento pues los azúcares de bajo peso molecular como la fructuosa, glucosa y sacarosa; o algunos ácidos como el cítrico, tartárico y málico, que producen un aumento en la adhesividad del producto lo que ocasiona que el polvo se pegue a las paredes del secador, esto trae como consecuencia que continuamente se tenga que dar limpieza al secador, convirtiendo la operación de secado por aspersión de continua a una operación por lotes, aumentando el tiempo de producción y causando una disminución en la calidad del producto que al adherirse a las paredes del secador gana humedad.

Se ha encontrado que este problema se puede disminuir de dos formas: adicionando aditivos (Bhandari y colaboradores, 1993; Bhandari y colaboradores, 1995) para el secado o llevando a cabo la operación a temperaturas muy bajas, inferiores a la temperatura de transición vítrea de los productos que contienen azúcar, pues se sabe que la adhesividad esta relacionada con esta propiedad.

Para lograr todo lo anterior se llevaron a cabo a nivel laboratorio una serie de pruebas obteniendo piña en polvo por medio de un secador por aspersión y así poder determinar experimentalmente cuales son las condiciones de operación óptimas (temperatura de entrada y salida del aire, velocidad del atomizador, gasto masa alimentado, etc.) con las que se obtuvo el producto con las mejores características (mayor eficiencia, mejor índice de solubilidad, menos humedad final en el producto).

MATERIALES Y MÉTODOS

Material.

La piña se compró en un mercado local de la Ciudad de México, la cual se peló con un cuchillo, se cortó primero en rebanadas y después en pedazos, se colocó en una licuadora para después proceder a obtener el jugo. El jugo se pasó por una

coladera de poro fino para poder separar el jugo del bagazo. Del jugo se pesaron 300 g en un recipiente plástico para después adicionar el vehículo o soporte (Maltodextrina) en diferentes proporciones dependiendo del experimento del cual se tratase, mezclándolo para obtener una solución homogénea.

Métodos.

Humedad. Esta determinación fue realizada en una termo balanza a 80 °C hasta obtener un peso constante.

Rendimiento. Esta determinación se obtuvo con base a los sólidos del jugo acondicionado y del polvo obtenido, mediante la siguiente relación:

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{\text{Sólidos del polvo}}{\text{Sólidos del jugo}} * 100$$

Índice de solubilidad. Se determinó según el método de El-Tinay & Ismail (1985).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

En las Figuras 1 a 3 se muestran los resultados obtenidos para la humedad final del producto, el rendimiento y el tiempo de solubilidad.

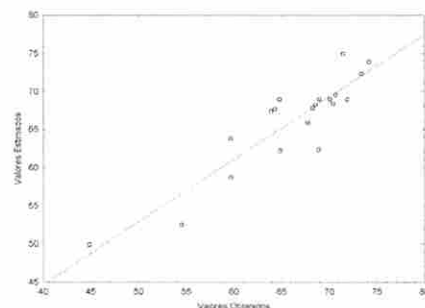


Figura 1 Valores estimados vs Valores obtenidos de eficiencia.

En la Figura 1 se muestran los valores experimentales de la eficiencia siendo en su mayoría superiores al 65%, que para ser un producto rico en azúcar son altos y con esto cumpliéndose los objetivos específicos fijados.

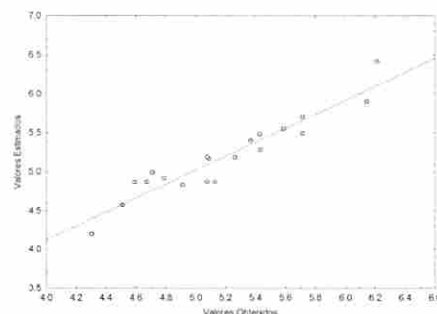


Figura 2 Valores estimados vs Valores obtenidos de humedad.

En la Figura 2 se muestran los valores experimentales de la humedad siendo en su mayoría inferiores a 6%, logrando con esto un producto seco y por lo tanto se cumplen los objetivos específicos fijados.

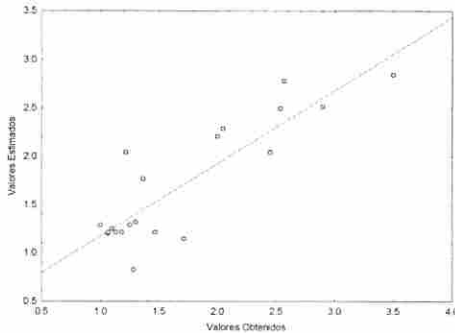


Figura 3 Valores estimados vs Valores obtenidos del tiempo de solubilidad.

En la Figura 3 se muestran los valores experimentales del tiempo de solubilidad siendo en su mayoría menores a 2 minutos, logrando con esto un producto instantáneo de fácil rehidratación y de este modo cumpliéndose los objetivos específicos fijados.

Las propiedades del polvo instantáneo (penetración, humidificación, dispersibilidad, y solubilidad), tamaño y distribución de partícula. Estas propiedades son influenciadas por la naturaleza de la alimentación (el contenido de sólidos, la viscosidad y la temperatura), el tipo de secador por aspersión, velocidad y presión de operación y temperatura de entrada y salida del aire (Hall & Iglesias, 1997; King, Kieckbusch, & Greenwald, 1984; Nath & Satpathy, 1998).

En las Figuras 4 a 6 se muestran las superficies de respuesta de las variables dependientes para obtener las mejores condiciones de operación.

En la Figura 4 se representa la influencia de las rpm del disco atomizador y la temperatura sobre la eficiencia, donde claramente se aprecia que se obtiene mayor eficiencia en un rango de temperatura de 134 °C a 144°C con rpm del disco atomizador de 29000 rpm, observando un decremento de la eficiencia al disminuir las rpm del disco atomizador.

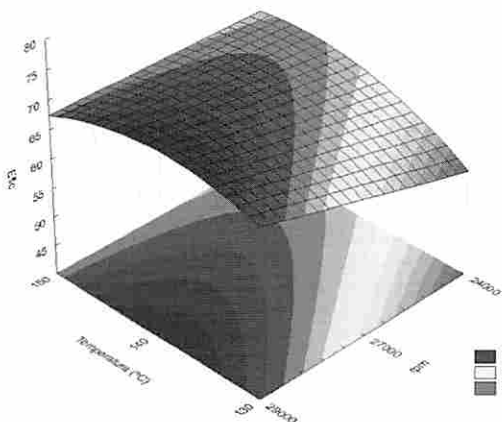


Figura 4 Influencia de la temperatura y revoluciones del atomizador en la eficiencia.

En la Figura 5 se representa la influencia del tipo de vehículo y la temperatura en el contenido de humedad final, donde claramente se aprecia que se obtiene menor contenido de humedad en un rango de temperatura de 141 °C a 146°C utilizando Maltodextrina DE 20 como vehículo, observando un incremento en el contenido de humedad del polvo disminuyendo la temperatura pero aún mayor utilizando Maltodextrina DE 10 como vehículo.

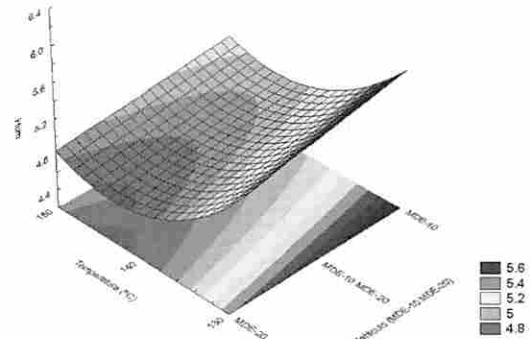


Figura 5 Influencia de la temperatura y del tipo de vehículo en la humedad.

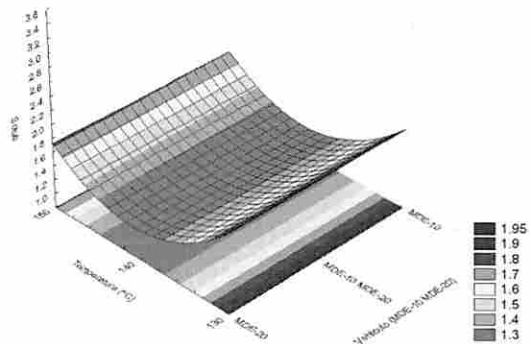


Figura 6 Influencia de la temperatura y del tipo de vehículo en el tiempo de solubilidad.

En la Figura 6 se representa la influencia del tipo de vehículo y la temperatura sobre el tiempo de solubilidad, donde claramente se aprecia que se obtiene menor tiempo de solubilidad en un rango de temperatura de 137 °C a 145°C sin importar el tipo de vehículo utilizado, observando un incremento en el tiempo de solubilidad al aumentar o disminuir la temperatura.

CONCLUSIONES

En la mayoría de los experimentos la humedad del producto final fue inferior al 6 % peso.

El rendimiento del producto fue mayor al 65 % y se podría incrementar tal vez modificando alguno o algunos de los parámetros de operación, pero se requiere realizar un mayor número de experimentos.

Los mejores resultados obtenidos fueron en las condiciones de operación de los experimentos 8, 12, 16 y 19.

Los tiempos de solubilidad en su mayoría fueron menores a 2 minutos por lo tanto se puede considerar al producto como un polvo instantáneo.

BIBLIOGRAFÍA

BHANDARI, B. R., SENOUSI, A., DUMOULIN, E. D. & LEBERT, A., Spray drying of concentrated fruit juices. *Drying Technology*, 11(5), 1993, pp. 1081-1092.
 BHANDARI, B. R., DATTA, N.; HOWES, T., Problems associated with spray drying of sugar-rich foods. *Drying Technology*, 15(2), 1997, pp. 671-684.
 EL-TINAY, A.H.; ISMAIL, I. A. Effect of some additives and processes on the characteristics of agglomerated and granulated spray-dried roselle powder. *Acta aliment. Hung.* 1985, 14(3), 283-295.
 HALL, G. M., & IGLESIAS, A. Functional properties of dried milk whey. *Food Science and Technology International*, 3, 1997, pp. 381-383.
 KING, C. J., KIECKBUSCH, T.G., & GREENWALD, C. G. Food quality factors in spray drying. In A. S. Mujumdar (Ed.), *Advantages in drying*, 1984, (3, pp. 71-120). Washington: Hemisphere Publishing Co.
 NATH, S., & SATPATHY, G. R., A systematic approach for investigation of spray drying process. *Drying Technology*, 16(6), 1998, pp. 1173-1193.

PROCESAMIENTO DE JITOMATE PARA ELABORACIÓN DE SALSA CATSUP LIBRE DE AGROQUÍMICOS Y APROVECHAMIENTO DE SUBPRODUCTOS POR FERMENTACIÓN EN MEDIO SÓLIDO.

Grande Trejo Josué Joaquín, Fabela Sánchez Omar Felipe,
Pérez Pérez Cristina, Herrera Pérez Sandra

Instituto Tecnológico de Celaya. Depto. De Ing. Bioquímica.

Av. Tecnológico y Antonio García Cubas s/n.

A.P. 57, C.P. 38010, Celaya Gto. México. Tel. 01(461) 61 1 75 75, Ext 209, 301.

Fax. 01 (461) 61 1 79 79, Ext 402. sandrah@itc.mx

Palabras clave: Procesamiento de alimentos y subproductos, salsa catsup, antioxidantes, conservadores naturales, composteo.

RESUMEN

Una contribución importante de México a la agricultura mundial es el jitomate, comúnmente llamado tomate. Para la elaboración del "Ketchup" se requiere jitomate, y este producto es consumido principalmente por jóvenes y niños, formando parte de su dieta. En el mercado actual existen muchas marcas de salsas, sin embargo el consumidor se ha vuelto más exigente, y los productos elaborados artesanalmente, "orgánicos" o 100% naturales, se han vuelto la preferencia en muchos casos. El objetivo de este trabajo fue el mejorar el proceso de elaboración, y la calidad del producto. Para ello se utilizaron jitomates cultivados orgánicamente, obteniendo un sabor característico en la salsa e incrementando su vida de anaquel en un 60% debido a las variantes de la formulación. Sin embargo era de importancia comparar la salsa catsup que se produjo con alguna marca ya existente, por ello se hicieron pruebas de textura y pH. De esta forma se corroboró que variaciones fueron las apropiadas, y de cual formulación se obtenía la más parecida a una de las marcas comerciales. Para poder establecer un nicho de oportunidad, se hizo una evaluación del mercado, utilizando a 200 panelistas no entrenados, que opinaron respecto al sabor, color y aroma. En una de las formulaciones se logró obtener la textura y el pH de la marca comercial, y los resultados de la evaluación mostraron una buena aceptación del producto.

Para la obtención de subproductos, las semillas son secadas y empacadas para su venta, los demás residuos del proceso son materia orgánica, los cuales se utilizaron para elaborar composta. De este modo se abate la producción de residuos, por fermentación en medio sólido.

INTRODUCCIÓN

Todos los seres humanos tienen necesidades primarias, tales como la alimentación, calzado, vestido, salud, etc., estas lo impulsan a la búsqueda de mejores productos, promovida por los cambios de consumo, la forma de vida ajetreada en la ciudad y esto sumado a la actividad laboral de la mujer; dentro de la creciente preocupación de mejorar el estilo de vida. Como consecuencia la industria de los procesados de alta calidad es la de mayor auge actualmente. Por ello se ha seleccionado la salsa catsup, la cual se elabora con jitomate; del cual se sabe que el carotenoide mayoritario es el licopeno, lo contiene aproximadamente en un 83% y también se encuentra en porcentaje importante el β -caroteno, entre un 3-7%. Estos compuestos antioxidantes además de otros que están en menor proporción, son de importancia en la dieta humana como fuente de antioxidantes. Se ha reportado que el puré de tomate y la salsa catsup, son una buena fuente de estos compuestos. La salsa además de ser elaborada con jitomates libres de agroquímicos, tiene conservadores naturales que provienen del ajo (*Allium sativum* L.), la canela (*Cinnamomum zeylanicum* J.Prest), así como la concentración de azúcares que provee la miel o el azúcar (dependiendo de la formulación). De la canela son dos los compuestos (cinamato de metilo, metilchavicol) que ayudan como agente conservador, evitando la proliferación de microorganismos. El ajo contribuye de igual forma con el (ajoeno), y este efecto puede ser incrementado utilizándolo en su forma pura (técnicas de extracción). Entre la canela y el ajo

se tiene una excelente combinación de aroma, sabor, bondades terapéuticas y una buena conservación del producto final.

Cabe señalar que el productor esta consiente que obtiene un fruto de primera calidad y libre de agroquímicos, cuando se aplican nuevas tecnologías para el cultivo y manejo post-cosecha. Factor determinante para las condiciones óptimas de la materia prima principal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Se utilizó jitomate (*Solanum lycopersicum* L.) variedad bola en su fase madura, con un color rojo intenso; "Bionatur Invernaderos Biológicos de México, S.A de C.V." Cebolla, especias, ajo, vinagre (manzana), miel, azúcar.

Olla de acero inoxidable 3L, licuadora, colador, embudo, parilla eléctrica, molino manual de discos, termómetro, pipeta de 10 mL, vasos de precipitado 250 mL, 500 mL. Potenciómetro OAKTON, pH 510 series. Balanza PB3001. TAX – T2 texture analyser, Stable Micro Systems.

Métodos.

Elaboración de salsa.

En la figura 1. Se muestra la secuencia de pasos según la numeración. La selección de jitomates se hace a mano, verificando que estos no estén golpeados y que no muestren señas de un mal estado físico; esto debe ser hecho en el campo (1). Después los jitomates serán transportados al lugar de la elaboración de la salsa. Se prosigue con el lavado y pesado del fruto (2). Se hace el escaldado a 95° C, pelado y eliminación de semilla (3). Se obtiene jugo de jitomate el cual se concentra manteniendo una temperatura de 65° C durante 25 minutos, después se cuece con los demás ingredientes entre 85 y 90° C durante 55 minutos. El proceso de cocción, desde la concentración del jugo (Entre 4 y 5) se realiza de forma tradicional; sería recomendado a bajas presiones, sin embargo, según el Centro de estudios agropecuarios (2001) no es muy rentable. Pero un buen control de este paso ofrece buena calidad en el producto final. Después de la concentración del jugo se agregan las especias previamente pesadas (6) y molidas (7), introduciéndolas en un pequeño saco de manta. De esta forma se evita el filtrado, y al final del proceso únicamente se retira el saco. Cuando comienza la cocción (8) se agregan los demás ingredientes y la miel o azúcar. El vinagre se agrega entre cinco y diez minutos antes que termine la cocción. Una vez que se deja de aplicar calor, se prosigue con el envasado (11). Los envases se revisan (9), esterilizan en ollas de presión (10) a 120 ° C durante 25 minutos. La salsa es vertida aun caliente, e inmediatamente se tapa el envase. Se etiqueta y se empaca, para su posterior almacenamiento (12). Los residuos obtenidos del proceso (13), se utilizan para la elaboración de composta.

Siguiendo el proceso anterior se realizaron seis formulaciones diferentes, únicamente se variaron las cantidades de cada uno de los ingredientes y tiempo en el proceso:

M1 y M2, diciembre del 2006.

M3, febrero del 2007.

M4, M5 y M6, junio del 2007.

Y como parámetro de comparación, una marca comercial.

Composición de la salsa catsup (M3):

Espicias: (0.37%) Canela (Alfredo Stauffer, Et al. 2000), pimienta (0.092%), clavo (0.55%) y mostaza (0.03%).

Ingredientes: Cebolla (7.4%), sal (0.48%), miel (0.5517%), vinagre (0.5517%), y (0.15%) ajo (María Ibelise de González, Et al. 1998).

- Materia prima principal: jitomate (89.74%)

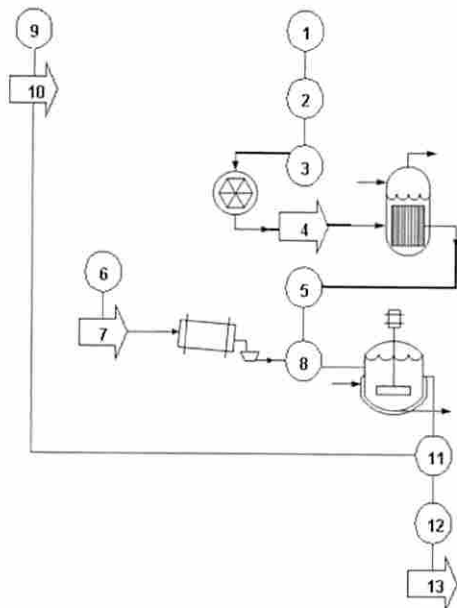


Figura 1.
Diagrama de proceso

Elaboración de composta.

Para la elaboración de composta se utilizan los residuos del proceso de la catsup (Especias, canela y cáscara), además de restos de comida, hojas secas, residuos de poda frescos, estiércol de caballo y tierra.

Se ajusta la relación C/N a 30, tomando en cuenta la relación C/N promedio de cada una.

Tabla 1.
Composición de la pila para composteo.

Composta		
Material	Kg.	C/N
Hoja fresca	26.5	20
Hoja seca	5	35
Estiércol	10	17.5
R. Domésticos	2.153	13
R Proceso	0.146	13
Tierra	10.5	100

La humedad se ajusta al 60%, utilizando el agua de lavado del proceso, y un poco de agua adicional durante la fase de estabilización de temperatura.

Los residuos se mezclan y se disponen en un cajón o pila para composteo, se monitorea la temperatura durante 7 días, hasta que no tenga variación y sea constante. Después se hacen revisiones periódicas únicamente para mantener la humedad. En un tiempo entre tres y seis meses se tendrá un material estable, que se utiliza como tierra para jardín o como abono en el campo.

Medición de pH.

Cada una de las muestras y el potenciómetro (encendido) se dejan a temperatura ambiente durante una hora, hasta que se estabilizan a 25.4° C. Se calibra con soluciones amortiguadoras

pH 7, 4 y 10. Después se toman las lecturas. Entre cada lectura se enjuaga el electrodo con agua destilada.

Textura.

Con el texturometro (TAX – T2 texture analyser, Stable Micro Systems.), se realizan tres pruebas por cada una de las muestras. Las muestras deben estar a temperatura ambiente 25.4° C.

Tabla 2.
Parámetros para prueba de textura.

Medida de fuerza de compresión	
Velocidad de pre ensayo (mm/s)	2
Velocidad de Ensayo (mm/s)	1
Velocidad post ensayo (mm/s)	5
Distancia (mm)	10
C. Carga (Kg.)	25
T (°C)	25
Fza (N)	0,05
*Trigger (g)	25
Distancia retroceso (mm)	10

* Gatillo o disparador.

Nicho de oportunidad

Con el producto final, se realizó un análisis cualitativo como lo propone Fischer Laura, Navarro Alma (1996) con los posibles consumidores (200 Panelistas no entrenados), para su posterior canalización a un sector en específico, según Alejos G; Velásquez R. (2006). El resaltar las propiedades del producto pareció tener un efecto importante en las encuestas, de esta forma pudo identificarse un sector de consumidores más delimitado.

Se comparo cada una de las salsas elaboradas – desde diciembre del 2006 hasta junio de 2007 – con una marca comercial, el color por el momento se ha comparado visualmente (con la ayuda de panelistas no entrenados).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Se obtuvieron las tres características deseadas pero en distintas muestras. Y analizando estas variaciones, se logro establecer que el jitomate debe estar maduro (rojo intenso) y sin ablandamiento. La temperatura de escaldado es de 95 ° C, con un tiempo total de proceso de 161 minutos, siendo la formulación de (M3) la que obtuvo mayor aceptación.

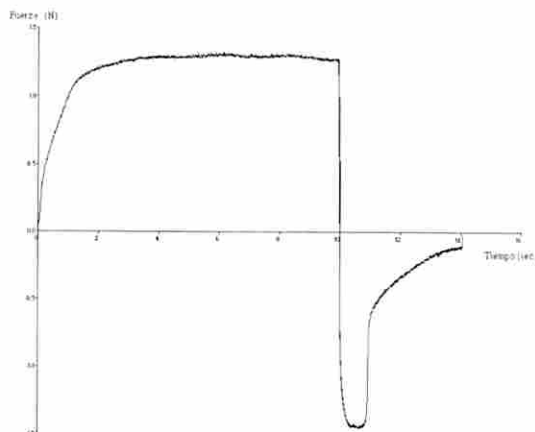


Figura 2.
Gráfico de ensayo de textura correspondiente a marca comercial de salsa catsup.

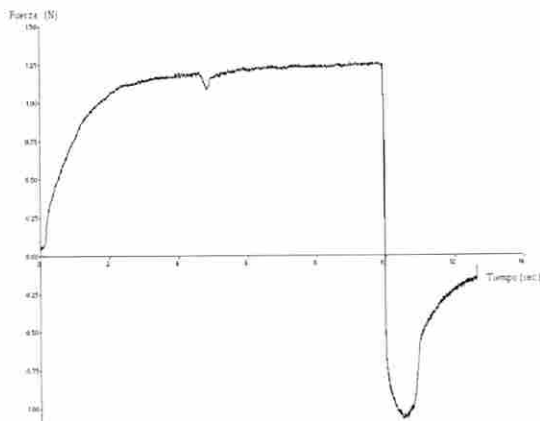


Figura 3.
Gráfico de ensayo de textura correspondiente a salsa catsup elaborada en febrero del 2007 (M3).

Si se compara la figura 1 y 2, puede observarse que el comportamiento de la salsa ante la compresión es el mismo, esto indica que la salsa tiene la textura deseada.

Tabla 2.
Lecturas de pH.

Comparación de pH. (T = 25.4 °C)	
Muestra	pH
Comercial	3.99
M1	3.23
M2	3.95
M3	3.5
M4	4.2
M5	NR
M6	4

Como se puede ver el pH que se ha obtenido en cada una de las salsas es el óptimo para una salsa tipo catsup, con excepción de M1 y M4, esto se refleja en el gusto al consumidor. A simple vista ninguna de las muestras ha presentado signos de descomposición, quedando pendiente la cuenta microbiana. El rango de edad de los principales consumidores se estableció entre los 7 y 35 años. La encuesta consto de ocho preguntas; tres fueron determinantes. El sabor (1), color (2) y aroma (3).

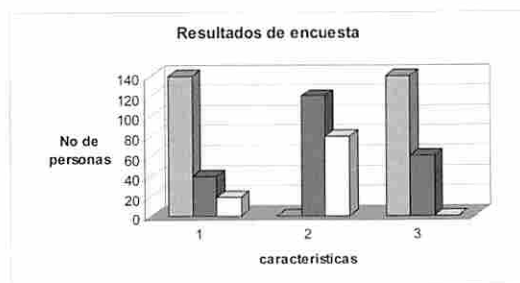


Figura 4.
Resultados de las encuestas

El sabor les agrado a la mayoría , a otros les pareció regular Y a una pequeña parte les desagrado.

El color no les agrado a la mayoría, a otros les pareció regular Y a la fracción restante le desagrado.

Con respecto al aroma la mayoría lo percibió como olor a "mariscos" (así lo describieron), a otros panelistas les agrado, y al resto les pareció indiferentes.

El producto final (M3) tuvo un color rojo opaco, con aroma agradable y sabor característico de la salsa catsup comercial. Con un rendimiento de 38% (300 mL de catsup, por cada 790 mL de jugo de jitomate), con una pérdida de humedad del 63%.

Las propiedades fisicoquímicas del producto comportado por fermentación en medio solidó no se han determinado, sin embargo por la reducción de volumen y la temperatura próxima a los 40° C, se deduce que el consorcio microbiano presente en la pila, esta activo.

CONCLUSIONES.

De las distintas formulaciones se estableció que la salsa catsup (M3) presento textura, color, sabor y aroma semejantes a marcas comerciales.

El pH cumple con el establecido en propiedades físicas y químicas de la norma NMX-F-338-S-1979. Además que con el proceso propuesto se generan subproductos en vez de residuos: las semillas se secan y se empaacan para su venta. Y la composta se puede utilizar como un mejorador de suelos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Alejos G; Velásquez R. Instituto Tecnológico de Celaya. Guía para la elaboración de un plan de negocios. México 2006
- Alfredo Stauffer B, Aida Orrego f., Alicia Aquino J. Selección de extractos vegetales con efecto fungicida y/o bactericida. Revista de ciencia y tecnología. Dirección de investigaciones - una vol. 1 n° 2, 2000 29
- Bartholomai Alfred. Planta productora de pasta de tomate. Sparta, New Jersey, USA.
- Centro de estudios agropecuarios. Elaboración de conservas. Grupo editorial Iberoamerica. México 2001.
- Fischer Laura, Navarro Alma. Introducción a la Investigación de Mercados. McGraw-Hill, Interamericana editores. México 1996.
- María Ibelise de González, Mireya Mendoza, María Bastardo de Albornoz y Rafael Apitz-Castro. Efectos del ajoeno sobre dermatofitos, Candida albicans y Malassezia furfu. Rev Iberoam Micol 1998; 15: 277-281.

OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE ANTOCIANINAS DEL CAMOTE MORADO (*IPOMOEA BATATAS (L.) LAM*) POR TRATAMIENTO CON VAPOR Y LIXIVIACIÓN A TEMPERATURA AMBIENTE CON AGUA ACIDULADA

Herrera Núñez, Esteban Gabriel; Betalleluz Pallardele, Indira; Ureña Peralta, Milber.

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Avenida La Molina s/n – La Molina. Lima 12. Perú. Fax: 51-1-3495764. E-mail:

eghn2000@hotmail.com

LIMA – PERÚ

Palabras claves: Procesamiento de alimentos y subproductos, antocianinas, camote morado.

RESUMEN

La extracción de antocianinas del camote morado por lixiviación fue optimizada utilizando agua acidulada con ácido fosfórico a pH 2 como solvente, después de haber sometido al camote a un tratamiento con vapor de agua a 83 kPa. Los parámetros a optimizar, utilizando la metodología de Superficie de Respuesta, fueron los de tiempo de exposición al vapor y la relación materia/solvente en la lixiviación. Utilizando estos parámetros se procedió a determinar el tiempo óptimo de lixiviación. Para este fin se evaluaron diferentes tiempos y se aplicó la metodología de Variación No Significativa en Cinética (VNSC). El tiempo óptimo de exposición al vapor fue de 1,5 minutos, la relación óptima materia/prima solvente fue de 1/9 y el tiempo óptimo de lixiviación fue de 6 horas. El extracto resultante de esta combinación de parámetros tuvo una cantidad de antocianinas de 354,26 mg por cada 100 g de materia seca, un índice de degradación de 4,6% y una pureza de 4,9% respecto a los sólidos totales.

INTRODUCCIÓN

Existe un interés creciente por reforzar los alimentos para que además de cumplir su función nutritiva, aporten algún efecto benéfico para la salud. Las antocianinas del camote morado presentan beneficios a la salud como antioxidantes (Kano *et al.*, 2005), antimutagénicos (Yoshimoto *et al.*, 1999) y acción anti diabética además de poseer una buena termo-estabilidad, por lo cual este pigmento es un colorante natural de alta calidad para los alimentos con potencial función preventiva contra los males relacionados con el estilo de vida (Terehara *et al.*, 2004).

En Brasil, Cascon *et al.*, (1984); citados por Woolfe (1992), estudiaron diferentes métodos para extraer las antocianinas de las variedades de pulpa morada encontrando que la extracción con agua era extremadamente lenta y laboriosa debido a la absorción del solvente por el almidón del camote que fue previamente escaldado y consecuentemente gelatinizado. La extracción con alcohol producía deposiciones de gránulos finos de almidón en el extracto concentrado durante el almacenamiento.

Quispe (2003), estudió la extracción de antocianinas del camote morado por lixiviación en agua acidulada utilizando tres diferentes ácidos: sulfúrico, fosfórico y cítrico. Encontró que el mejor método era por medio de una lixiviación en una solución acuosa de ácido fosfórico de pH 2 a 50°C durante 4 horas, con una relación materia prima 1/20.

El objetivo principal de esta investigación consistió en determinar los parámetros que hacen máxima la extracción de antocianinas del camote morado aplicando un tratamiento con vapor previo al proceso de lixiviación a temperatura ambiente con agua acidulada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales.

Se utilizó el clon de camote morado CIP101026.37 proveniente del centro internacional de la papa.

Métodos.

Extracción de antocianinas mediante tratamiento con vapor

Para el proceso de extracción de antocianinas, la materia prima fue reducida a rodajas de 3mm de espesor y 2,5cm de diámetro seguido inmediatamente de una inactivación enzimática en una solución de ácido cítrico a pH 1 durante 2 minutos; luego, las rodajas fueron secadas con aire caliente a 50°C hasta 6% de humedad. La extracción de antocianinas se realizó siguiendo la metodología descrita por Herrera (2005). El método consiste en un shock térmico con vapor de agua a presión de 83 kPa con el fin de permeabilizar las células de la materia prima y una posterior lixiviación con agua a temperatura ambiente para extraer el pigmento. En la presente investigación se realizó la variante de utilizar agua acidulada con ácido fosfórico ya que Quispe (2003) y Huaroto (2005) encontraron como óptimo este solvente en la extracción de antocianinas por lixiviación.

La relación óptima materia prima/solvente y el tiempo óptimo de exposición al vapor, se determinaron mediante el método de Superficie de Respuesta ($p < 0,05$), considerando un factorial $3^2 \times 3$. Se determinaron los valores de (i) tiempo de tratamiento con vapor y (ii) relación materia prima/solvente, que hacen máxima la extracción de antocianinas del camote morado por lixiviación a temperatura ambiente en agua acidulada con ácido fosfórico a pH 2 durante 24 horas. Los factores tiempo de exposición al vapor y relación materia prima/solvente fueron evaluados con los niveles 2, 5 y 8 minutos y 1/2, 1/6 y 1/10 respectivamente.

Obtenidos los parámetros óptimos de tiempo de tratamiento con vapor y relación materia prima/solvente, se procedió a determinar el valor óptimo del tiempo de lixiviación. Se probaron 6 tiempos diferentes: 2, 6, 8, 12, 24 y 36 horas de lixiviación con agua acidulada a temperatura ambiente. Se analizaron los resultados mediante el método de Variación No Significativa en Cinética (Rubio, 2004) para encontrar el tiempo mínimo de lixiviación.

Extracción de antocianinas con metanol. Para efectos comparativos, se realizó un proceso de extracción de antocianinas con metanol acidificado al 0,01% con HCl, siguiendo la metodología descrita por Wrolstad *et al.* (2005).

Determinación de antocianinas. Se utilizó el método de pH diferencial (Wrolstad *et al.*, 2005) para la cuantificación de antocianinas monoméricas presentes en las muestras utilizando dos buffers a diferente pH (1 y 4,5), las lecturas se realizaron con la ayuda de un espectrofotómetro ThermoSpectronic®, modelo Genesys 6, a 525 nm de longitud de onda máxima.

Color polimérico, densidad de color y porcentaje de color polimérico. Los índices de degradación fueron medidos siguiendo la metodología descrita por Wrolstad *et al.* (2005) utilizando meta bisulfito de sodio anhidro; las lecturas se realizaron con la ayuda de un espectrofotómetro ThermoSpectronic®, modelo Genesys 6, a 420, 525 y 700 nm.

Valores CIEL*a*b*. Los índices de color se obtuvieron con ayuda de un colorímetro Minolta CR 400 a un pH 2,63 +/- 0,12.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Determinación de los parámetros óptimos de tiempo de exposición al vapor y relación materia prima/solvente.

Primera aproximación a la vecindad del óptimo

Los resultados presentados en la Tabla 1 muestran que conforme aumenta el tiempo de exposición al vapor la cantidad de antocianinas monoméricas va disminuyendo. De lo cual se infiere que un tiempo prolongado de exposición al vapor no degrada el pigmento. Asimismo, se observa que a medida que aumenta la cantidad de solvente utilizado, la cantidad de antocianinas monoméricas aumenta debido a un cambio en el gradiente de concentración lo cual afecta el proceso lixiviativo posterior al tratamiento con vapor.

Tabla 1. Antocianinas monoméricas

Relación MP/SOL	Tiempo (min)	Acy Mon(*)
1/2	2	212,92 +/- 21,78
	5	145,25 +/- 14,29
	8	120,51 +/- 10,12
1/6	2	276,71 +/- 16,50
	5	238,77 +/- 12,11
	8	174,56 +/- 7,18
1/10	2	291,04 +/- 16,75
	5	243,04 +/- 8,97
	8	199,28 +/- 11,74

(*) mg cianidina-3-glucósido por cada 100 g de materia seca.

En la figura 1 resultante de la aplicación del método de Superficie de Respuesta a los resultados obtenidos, se aprecia que se puede escalar hacia la vecindad del óptimo reduciendo el tiempo de exposición al vapor y acercando más los valores al óptimo de la relación materia prima/solvente, lo que demandó realizar una segunda aproximación.

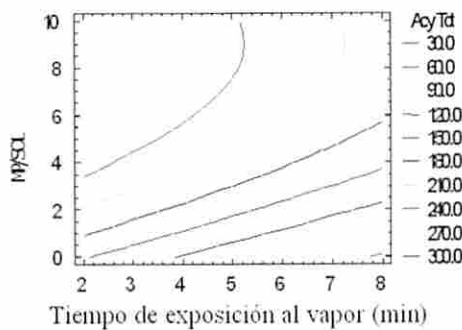


Figura 1. Líneas de contorno de la superficie de respuesta estimada

Segunda aproximación a la vecindad del óptimo.

En la Tabla 2, en el cual se presentan los resultados obtenidos para los nuevos valores ensayados de tiempo de exposición al vapor y relación materia prima/solvente, se observa que para las tres diferentes relaciones materia prima/solvente utilizadas, un tratamiento con vapor previo a la lixiviación a temperatura ambiente presenta mejores rendimientos de extracción respecto a la cantidad de antocianinas monoméricas obtenidas sin tratamiento con vapor.

Cuadro 2. Antocianinas monoméricas (vecindad del óptimo)

Relación MP/SOL	Tiempo (min)	Acy Mon(*)
1/6	0	245,01 +/- 5,79
	1	276,94 +/- 23,16
	2	276,71 +/- 16,50
1/8	0	248,69 +/- 0,59
	1	296,02 +/- 4,39
	2	295,85 +/- 8,70
1/10	0	225,83 +/- 1,27
	1	311,85 +/- 29,81
	2	291,04 +/- 16,75

(*) mg cianidina-3-glucósido por cada 100 g de materia seca. De las figuras 2 y 3, resultantes de la aplicación del método de Superficie de Respuesta, podemos observar la localización del óptimo de la función, que resulta de la combinación de 1.5

minutos de exposición al vapor y 1/9 de relación materia prima/solvente.

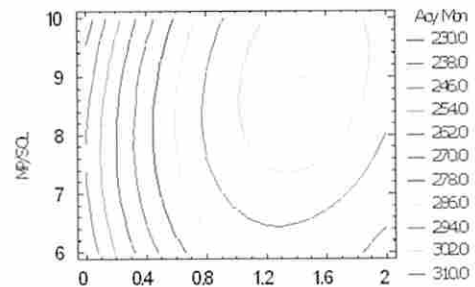


Figura 2. Líneas de contorno de la superficie de respuesta estimada (en la vecindad del óptimo)

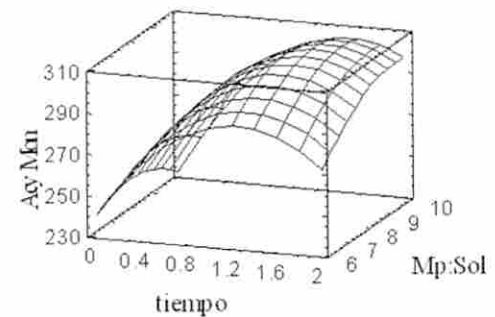


Figura 3. Superficie de Respuesta estimada evaluada en la vecindad del óptimo

Índices de degradación de antocianinas.

En los Cuadros 3 y 4 se observa que conforme aumenta el tiempo de exposición al vapor la cantidad de antocianinas degradadas es mayor. Tiempos mayores a 5 minutos de exposición al vapor, pueden no sólo permeabilizar las paredes y membranas celulares, sino que degradan al pigmento, de naturaleza termolábil, contenido en las células. Los índices de degradación evaluados en la vecindad del óptimo muestran que no existe mucha diferencia en cuanto al porcentaje de antocianinas degradadas entre 1 minuto de exposición al vapor y sin tratamiento con vapor.

Cuadro 3. Índice de degradación

Tiempo (min)	Relación MP/SOL		
	1/2	1/6	1/10
2	6,88 +/- 1,1	4,69 +/- 1,2	4,22 +/- 0,9
5	10,39 +/- 1,3	6,79 +/- 0,1	6,29 +/- 0,2
8	16,46 +/- 2,6	11,75 +/- 0,7	8,98 +/- 0,3

Cuadro 4. Índice de degradación (vecindad del óptimo)

Tiempo (min)	Relación MP/SOL		
	1/6	1/8	1/10
0	4,63 +/- 0,4	4,38 +/- 0,6	3,97 +/- 0,4
1	4,63 +/- 0,3	4,46 +/- 0,7	4,06 +/- 0,8
2	4,69 +/- 1,2	4,64 +/- 1,1	4,22 +/- 0,9

Si se observa la diferencia en la proporción de antocianinas degradadas entre 5 y 8 minutos, se puede ver que a medida que aumenta la cantidad de solvente utilizado, la diferencia entre ambos valores de antocianinas degradadas disminuye, lo cual se debe, posiblemente, a que una mayor proporción de solvente asegura la acidez del medio, mientras que a menor cantidad de solvente y mayor proporción de materia prima, no se alcanza el mismo pH, provocando que las antocianinas estén más expuestas a la degradación.

Características de color

Los resultados de las mediciones en el colorímetro se presentan en la Tabla 5. Se puede apreciar que el valor de L* (luminosidad) disminuye a mayores tiempos de exposición al vapor, resultando en extractos más oscuros.

Cuadro 5. Valores CIELAB de los extractos obtenidos

Rel. MP/SO	Tiempo (min)	L*	a*	b*	Hue	Chroma	ΔE
1/6	0	21,5	11,4	2,7	0,23	11,74	---
	1	20,8	14,5	3,9	0,27	15,02	3,38
	2	20,6	14,6	3,9	0,26	15,07	0,21
1/8	0	22,6	15,0	4,2	0,28	15,58	---
	1	21,6	15,4	4,3	0,27	16,00	1,07
	2	21,5	16,1	4,2	0,25	16,63	0,73
1/10	0	23,3	17,7	5,5	0,30	18,51	---
	1	22,5	19,5	6,8	0,34	20,64	2,40
	2	22,4	19,6	6,8	0,33	20,77	0,19

Los valores de Chroma se incrementan conforme se aumenta el tiempo de exposición de las muestras al vapor y, por lo tanto, tienen un color más intenso.

De acuerdo a Francis y Clydesdale (1975), un valor de 2 para ΔE, sería una diferencia visible notable en el color de las muestras y que un valor de 3 sería inaceptable. Se puede observar en la Tabla 5 que no existen valores de 2 para ΔE entre los extractos obtenidos con tratamiento con vapor. Sin embargo, entre los extractos sin tratamiento con vapor y aquellos sometidos al tratamiento con vapor, la diferencia es de alrededor de 2 para la relación 1/10 y 3 para la relación 1/6, lo que indica que la diferencia de color entre los tratamientos con y sin vapor es notable para el ojo humano.

Determinación del tiempo óptimo de lixiviación en agua acidulada.

En la Tabla 6 y la Figura 5, se aprecia que la cantidad de antocianinas va aumentando conforme aumenta el tiempo de lixiviación. La curva de cinética obedece a un modelo exponencial y asintóticamente alcanza con el tiempo un valor máximo.

Cuadro 6. Antocianinas monoméricas

Tiempo (horas)	Acy Mon (*)
2	203.25 +/- 0,43
6	332.79 +/- 3,19
8	342.80 +/- 1,06
12	346.34 +/- 0,85
24	354.26 +/- 1,49
36	375.73 +/- 4,04

(*) mg cianidina-3-glucósido por cada 100 g de materia seca.

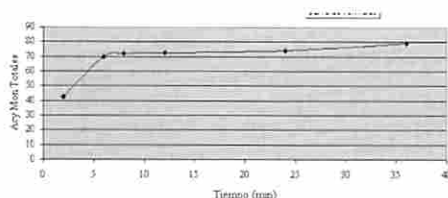


Figura 5. Variación de la concentración de antocianinas monoméricas (trat. Vapor =1,5 min; MP/SOL =1/9)

Para determinar el tiempo óptimo los datos fueron analizados siguiendo la metodología VNSC. El análisis estadístico ANVA indica que existen diferencias significativas ($p < 0,05$), entre las medias de los resultados obtenidos con los diferentes tiempos de tratamiento. Los rendimientos más altos se obtuvieron con los tiempos de lixiviación de 24 y 36 horas y, del análisis de comparación de medias (Figura 6), se observa que no existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los resultados obtenidos con estos dos tiempos, y entre 24 y 6 horas tampoco, por lo que es posible afirmar que, para el tamaño de hojuela ensayado y la relación materia prima/solvente utilizada, el tiempo óptimo de lixiviación es de 6 horas.

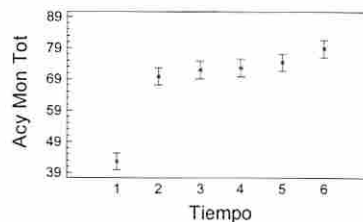


Figura 6. Comparación de medias de la cantidad de antocianinas (trat. Vapor =1,5 min; MP/SOL =1/9)

Comparación entre extracción con vapor y con metanol

La extracción mediante tratamiento con vapor obtuvo 75,8% más en cantidad de antocianinas, 56,6% menos antocianinas degradadas y 81,5 % más de pureza.

Comparación entre lixiviación a diferentes temperaturas

Se comparó la lixiviación a temperatura ambiente contra una lixiviación a temperatura de 50°C, dato reportado como óptimo por Quispe (2003). La lixiviación a temperatura ambiente obtuvo 11,3% más en cantidad de antocianinas; 6,3 % menos antocianinas degradadas y una pureza mayor en 16,2 %

CONCLUSIONES

El tiempo óptimo de exposición al vapor de agua saturado a 83 kPa de presión manométrica fue de 1,5 minutos. La relación óptima materia prima/solvente fue de 1/9. El tiempo óptimo de lixiviación en agua acidulada con ácido fosfórico a temperatura ambiente fue de 6 horas. El extracto resultante tuvo un promedio de 354,26 mg de cianidina-3-glucósido/100 g de materia seca, con una pureza de 4,9% y un índice de degradación de 4,6%. Un tiempo mínimo de exposición al vapor es suficiente para permeabilizar las células y permitir una mejor lixiviación.

BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS

- Francis, F.J. y Clydesdale, F.M. 1975. Food Colorimetry: Theory and applications. Westport Connecticut: The AVI Publishing Company Inc.
- Herrera, J.C. 2005. Ahorro energético en la extracción por lixiviación del pigmento del maíz morado (Zea Mays L.). Tesis UNALM. Lima, Perú.
- Huaroto, R. 2005. Obtención de extracto concentrado de antocianinas a partir de la cáscara de uva. Tesis. UNALM. Lima, Perú.
- Kano, M.; Takayanagi, T.; Harada, K.; Makino, K. y Ishikawa, F. 2005. Antioxidative Activity of Anthocyanins from Purple Sweet Potato, Ipomoea batatas Cultivar Ayamurasaki. Bioscience. Biotechnology. Biochemistry. 69, 979-988.
- Quispe, R.2003. Extracción de antocianinas del camote morado (Ipomoea batatas (L.) Lam). Tesis. UNALM. Lima, Perú.
- Rubio, E. 2004. Determinación del tiempo óptimo de homogenización de partículas en un mezclador de volteo tipo pantalón. Tesis. UNALM. Lima, Perú.
- Terehara, N.; Konczak, I.; Ono, H.; Yoshimoto, M. y Yamakawa, O. 2004. Characterization of Acylated Anthocyanins in Callus Induced From Storage Root of Purple-Fleshed Sweet Potato, Ipomoea batatas L. Journal of Biomedicine and Biotechnology. 5, 279-268
- Woolfe, J. A. 1992. Sweet potato an untapped food resource. Cambridge University Press. Great Britain.
- Wrolstad, Acree, Decker, Penner, Reid, Schwantz. Shoemaker, Smith, Sporns. 2005. Handbook of food analytical chemistry. Pigments, colorants, flavours, texture and bioactive food components. John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, New Jersey.
- Yoshimoto, M.; Okuno, S.; Yoshinaga, M.; Yamakawa, O. Yamaguchi, M. y Yamada, J. 1999. Antimutagenicity of Sweet Potato (Ipomoea batatas) Roots. Bioscience. Biotechnology. Biochemistry. 63, 537-541.

RESPUESTA DE *Listeria innocua* A DISTINTOS ESTRESSES LUEGO DE LA APLICACIÓN DE ANTIMICROBIANOS NATURALES EN SUERO DE QUESO

Hernaez, Laura; von Staszewski, Mariana; Jagus, Rosa Juana
 Laboratorio de Microbiología Industrial: Tecnología de Alimentos, Dpto. de Ingeniería Química,
 Facultad de Ingeniería, Universidad de Buenos Aires.
 Pabellón de Industrias, Ciudad Universitaria, (1428) Buenos Aires, Argentina.
 E-mail rjagus@di.fcen.uba.ar

Palabras clave: Procesamiento de alimentos, antimicrobianos naturales, estrés microbiano, suero de queso.

RESUMEN

El suero de queso puede ser estabilizado microbiológicamente y conservado para su uso como ingrediente de alimentos. Recientemente, el interés de los consumidores se ha centrado en el uso de "antimicrobianos naturales" como alternativa al uso de los sintéticos. Se utilizaron nisina, Microgard™ y té verde como conservantes naturales del suero de queso; para luego aplicar distintas condiciones de estrés asociadas al procesamiento, preservación y almacenamiento de alimentos. Los objetivos de este trabajo fueron estudiar la respuesta de *Listeria innocua* frente a distintas condiciones de estrés luego de la aplicación de antimicrobianos naturales en suero de queso. Las condiciones de estrés evaluadas fueron calor (52°C, 60 min.), H₂O₂ (0,1%, 60 min.), etanol (18%, 2 hs.), HCl (pH 3,8 2,5 hs.) y NaCl (25%, 3 hs.).

Listeria innocua tratada con nisina mostró en general, mayor susceptibilidad a los posteriores ensayos de estrés; resultando en respuestas sinérgicas para todos los tratamientos.

El tratamiento con Microgard ejerció un efecto sinérgico junto con la aplicación de calor. Sin embargo, los estreses inducidos con etanol, NaCl, H₂O₂ y HCl no mostraron diferencias significativas con respecto a los mismos tratamientos en las muestras control.

El té verde no produjo susceptibilidad por parte de *L. innocua* en ninguna de las condiciones de estrés evaluadas. Esto puede deberse a la fuerte interacción de los polifenoles del té verde con las proteínas del suero, lo cual resultaría en un sistema distinto que podría ejercer efectos protectores.

Los resultados obtenidos indican que es posible obtener respuestas sinérgicas mediante la aplicación de antimicrobianos naturales en combinación con otros factores de estrés.

INTRODUCCIÓN

El suero de queso, subproducto de la industria quesera, tiene como componentes principales proteínas, azúcares y sales. Debido a su alta demanda biológica de oxígeno, no puede ser eliminado sin tratar. Por consiguiente, es importante que la industria del queso tenga distintas opciones para conservarlo y utilizarlo como base de alimentos, con el fin adicional de no contaminar el medio ambiente.

Es posible obtener suero en polvo y otros derivados mediante la aplicación de un proceso de membrana, una concentración y un secado spray; implicando estos procesos un costo considerable (Henning y col., 2006). El líquido concentrado obtenido a la salida del proceso de membrana (producto intermedio) es un sustrato rico para el crecimiento de microorganismos. Si se lo estabiliza adecuadamente, puede ser utilizado directamente en la elaboración de alimentos en reemplazo de productos en polvo. Por lo tanto, resulta útil desarrollar métodos simples y económicos, alternativos a los ya existentes, que permitan estabilizar este líquido, para que pueda ser almacenado hasta su utilización manteniendo un estándar microbiológico y nutricional adecuado.

Numerosos compuestos químicos sintéticos son usualmente utilizados como antimicrobianos durante el procesamiento y almacenamiento de alimentos para eliminar microorganismos contaminantes y patógenos, muchos de los cuales han desarrollado resistencia a antibióticos. Recientemente, el interés y la preocupación de los consumidores se ha centrado en el uso de "antimicrobianos naturales" como alternativa al uso de los sintéticos debido a los potenciales riesgos de estos últimos

sobre la salud (Si y col., 2006). Por otro lado, gran parte de la población ha demostrado un creciente interés por los alimentos funcionales, es decir alimentos con efectos benéficos para la salud ó funciones biorreguladoras.

La nisina es una bacteriocina producida por *Lactococcus lactis* y puede permeabilizar la membrana de los microorganismos mediante mecanismos específicos o no específicos (Bauer y Dicks, 2005). Es efectiva en la inactivación de un amplio rango de bacterias gram positivas. Varios autores han demostrado su efectividad en productos lácteos, como quesos untables, ricota, leche y suero líquido frente a la contaminación de *Clostridium spp.* y de *Listeria spp.* (Gallo y col., 2007).

Microgard™, producto de la fermentación de la leche descremada por parte de *Propionibacterium shermanii*, contiene diacetilo, ácido acético, propiónico y láctico y componentes inhibitorios de PM de 700 Da (Zuckerman y Ben Abraham, 2002). Es efectivo contra bacterias gram positivas y gram negativas como *Pseudomonas*, *Salmonella* y *Yersinia* y algunos hongos. Fue aprobado en los Estados Unidos para su uso en queso cottage y se estima que éste es utilizado en el 30% de los quesos producidos en ese país (Sani y col., 2005).

El té es la segunda bebida más consumida en el mundo, luego del agua. Estudios epidemiológicos han mostrado que el consumo regular de té verde está asociado con beneficios para la salud humana, como por ejemplo la prevención de varios tipos de cáncer y enfermedades cardiovasculares. Estos efectos protectores son generalmente atribuidos a los polifenoles presentes en el té, en particular a las catequinas (Scalbert y col., 2005). Paralelamente, el té ha mostrado resultados alentadores respecto a su actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis* entre otros (Cushnie y Lamb, 2005).

Listeria monocytogenes es una bacteria Gram(+), patógena y contaminante de alimentos. Es de gran importancia en la industria alimentaria debido a su capacidad de crecer en ambientes extremos como refrigeración, altas temperaturas, amplios rangos de pH y bajos valores de actividad de agua.

En general, los microorganismos presentes en alimentos son sometidos a varias condiciones de estrés inducidas por frío, calor, sal ó ácidos durante el procesamiento ó almacenamiento. Estos estreses pueden ocurrir durante un período corto ó pueden durar varios días. Debido a esto es importante estudiar la capacidad que tiene *Listeria monocytogenes* para sobrevivir y multiplicarse bajo condiciones asociadas al procesamiento, preservación y almacenamiento de alimentos; y así poder desarrollar nuevas combinaciones de tratamientos que permitan controlar el crecimiento bacteriano (Geng y col., 2003).

Listeria innocua, especie no patógena, puede ser utilizada como indicador biológico de *L. monocytogenes* debido a su respuesta similar frente a tratamientos físicos, químicos ó térmicos.

Los objetivos de este trabajo fueron estudiar la respuesta de *Listeria innocua* frente a distintas condiciones de estrés como bajo pH, alta concentración de NaCl, calor, H₂O₂ y etanol, luego de la aplicación de antimicrobianos naturales en suero de queso líquido.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de los extractos de té verde

Se pesaron 3,0 g de hojas de té verde comercial, se molieron en molinillo de café y se agregaron 97 ml de agua destilada

caliente (95°C aproximadamente) para lograr un extracto soluble en agua al 3% (P/V). Esta infusión se mantuvo en un baño térmico a 100°C durante 20 minutos. Luego se filtró con algodón y se centrifugó a 10000 rpm durante 20 minutos para eliminar el polvillo. El extracto se esterilizó en autoclave (120°C, 15min.) y se reservó para la posterior preparación del suero de queso.

Tratamiento con antimicrobianos

Se utilizó *Listeria innocua* (CIP 8011, CCMA 29) cultivada en caldo triptona de soya enriquecido con extracto de levadura (TSYE). Una alicuota de un precultivo de 16 - 18 horas de incubación a 28°C fue transferida a un caldo fresco de TSYE y el mismo fue incubado hasta la densidad poblacional deseada. Alicuotas de 20ml del cultivo inoculado fueron centrifugadas durante 40 minutos a 10.000 rpm y el pellet de células fue resuspendido en el mismo volumen de suero líquido con 8% de sólidos, preparado a partir de concentrado proteico de suero en polvo con 34% de proteínas (WPC34, provisto por Milkaut S.A), disolviendo con agua destilada ó con extracto de té verde. El pH fue ajustado a 5,5 con HCl 0.25N. Para los tratamientos con Nisina, ésta se agregó a una concentración final de 300UI/mL. Microgard™ se adicionó hasta una concentración final del 5%.

Las muestras control y las tratadas con té verde y Microgard fueron almacenadas a 20°C durante 48 horas. Otra tanda de muestras control y las tratadas con nisina sólo se incubaron durante 30 minutos antes de realizar los ensayos de estrés.

Ensayos de susceptibilidad a distintos estreses

Se prepararon tubos con 9 ml de buffer PBS para el control y el tratamiento con calor (60 minutos a 52°C); y otros tubos con PBS más el agregado de H₂O₂ (0,1%), etanol (18%), HCl (pH 3,8) ó NaCl (25%). Si inocularon con 1 ml de las muestras control y las tratadas con los distintos antimicrobianos y se incubaron a temperatura ambiente por 1, 2, 2,5 y 3 horas, respectivamente. La efectividad de los tratamientos fue evaluada mediante el recuento en placa de células viables. Las determinaciones fueron realizadas por duplicados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los ensayos de estrés produjeron distintas respuestas en las muestras control. Por ejemplo, el tratamiento con calor produjo una reducción de 1 orden aproximadamente, mientras que los tratamientos con NaCl, HCl y etanol no mostraron respuestas significativas en la reducción de *Listeria innocua*. El más efectivo resultó ser el tratamiento con H₂O₂, el cual condujo a una reducción de 4 ciclos logarítmicos (Figuras 1-3). Estos resultados son similares a los obtenidos por Lin y Chou (2004) quienes observaron las respuestas de distintas cepas de *Listeria monocytogenes* frente a distintos ambientes de estrés como calor, etanol, NaCl y H₂O₂ luego de un tratamiento previo de shock térmico.

Cuando se realizó el tratamiento con nisina, los posteriores ensayos de estrés mostraron, en general, mayor susceptibilidad por parte de *Listeria innocua*. El estrés de calor ó shock térmico produjo una reducción de 2 órdenes con respecto al mismo estrés en las muestras control, resultando en un efecto sinérgico (Figura 1). Los tratamientos con NaCl y HCl también mostraron efectos sinérgicos con la nisina, reduciendo 3,5 y 4,5 ciclos log con respecto a las mismas condiciones de estrés aplicadas para las muestras control. Los tratamientos más efectivos resultaron ser el etanol y el H₂O₂, con los cuales se obtuvieron recuentos menores a 50 UFC/ml (Figura 1). Se sabe que la nisina actúa formando poros por desestabilización de la membrana, produciendo flujo de iones y solutos citoplasmáticos e inhibiendo procesos biosintéticos por despolarización de la membrana (Deegan y col., 2006). Este proceso sensibilizaría a la célula a cambios externos de osmolaridad y pH. Esta incapacidad de osmorregulación llevaría en estos casos a una mayor muerte celular.

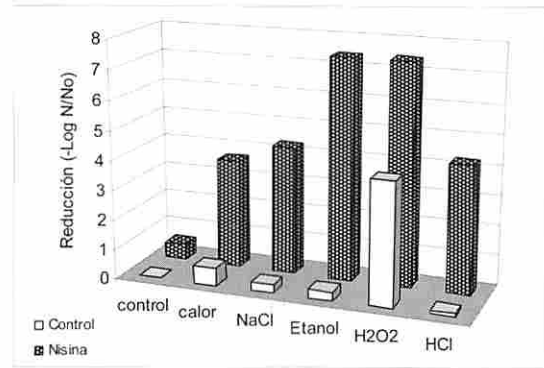


Figura 1. Respuesta de *Listeria innocua* frente a distintos estreses luego de la aplicación de nisina (300UI/ml).

El tratamiento con Microgard ejerció un efecto sinérgico junto con la aplicación de calor, observándose una reducción de 3 ciclos log con respecto al mismo estrés sin el agregado de Microgard. Los estreses inducidos con etanol, NaCl, H₂O₂ y HCl no mostraron diferencias significativas con respecto a los mismos tratamientos en las muestras control (Figura 2). Dado que el Microgard™ tiene en su composición diacetilo, ácido acético, propiónico y láctico, podemos comparar los resultados con los obtenidos por Phan-Thanh y col. (2000). Estos investigadores observaron que la adaptación de *Listeria monocytogenes* a un ambiente ácido producido con ácidos lipofílicos débiles (acético, butírico y propiónico), produce un aumento de resistencia al tratamiento posterior con calor (52°C), shock osmótico (25% NaCl) y estrés alcohólico (15%). La discrepancia con nuestros resultados al aplicar el shock térmico puede deberse al hecho de estar trabajando con una matriz alimentaria compleja que ejerce efectos protectores

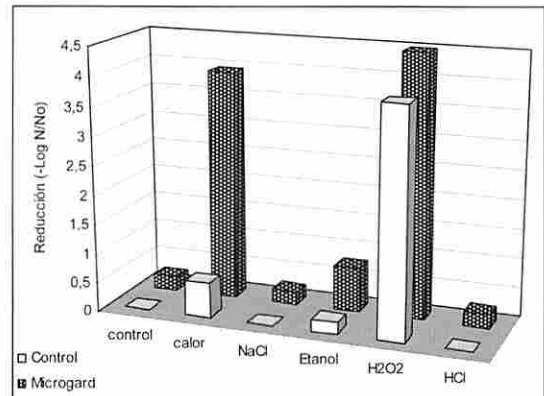


Figura 2. Respuesta de *Listeria innocua* frente a distintos estreses luego de la aplicación de Microgard (5%).

Los resultados obtenidos con el tratamiento de té verde mostraron respuestas diferentes a las obtenidas con los otros antimicrobianos. Esto puede deberse a que los polifenoles del té verde interactúan con la matriz alimentaria, principalmente con las proteínas, obteniéndose un sistema básicamente distinto, donde la respuesta bacteriana a los distintos estreses se ve modificada. Estas interacciones fueron reportadas por varios autores para sistemas de proteínas y polisacáridos como leche y productos lácteos (Ferruzzi y Green, 2006; He y col., 2006). Adicionalmente, debido a la capacidad antioxidante del té verde, el tratamiento con H₂O₂, el cual es altamente oxidante, resulta inefectivo, ejerciendo en este caso el té un efecto protector (Figura 3).

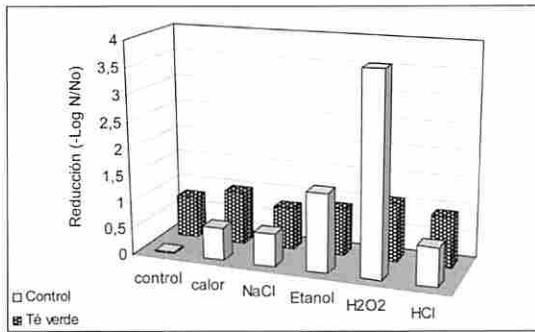


Figura 3. Respuesta de *Listeria innocua* frente a distintos estreses luego de la aplicación de extracto de té verde (3%).

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos indican que es posible obtener respuestas sinérgicas mediante la aplicación de antimicrobianos naturales en combinación con otros factores de estrés asociados al procesamiento y almacenamiento de alimentos. Sin embargo, resulta importante evaluar cada sistema alimenticio con el fin de optimizar las concentraciones a utilizar y estudiar posibles efectos protectores. La utilización de los antimicrobianos naturales como nisina, Microgard y té verde permitirían conservar el suero de queso para que pueda ser utilizado como ingrediente en la elaboración de alimentos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo económico de la Universidad de Buenos Aires y del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la República Argentina, y a las Empresas AMG S.R.L. y Danisco por la donación de los antimicrobianos NisaplinTM y MicroGardTM.

REFERENCIAS

- Bauer, R., Dicks, L.M.T. 2005 Mode of action of lipid II-targeting lantibiotics. *International J. Food Microbiology*, 101: 201-216.

- Cushnie T.P.T., Lamb, A.J. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *International J. Antimicrobial Agents*, 26: 343-356.
- Deegan, L., Cotter, P.D., Colin, H., Ross, P. (2006). Bacteriocins: Biological tools for bio-preservation and shelf-life extension. *Int. Dairy J.*, 16: 1058-1071
- Ferruzi, M.G., Green, R.J. 2006. Analysis of catechins from milk-tea beverages by enzyme assisted extraction followed by high performance liquid chromatography. *Food Chemistry*, 99: 484-491.
- Gallo, L.I., Pilosof, A.M.R., Jagus, R.J. 2007. Effective control of *Listeria innocua* by combination of nisin, pH and low temperature in liquid cheese whey. *Food Control*, 18: 1086-1092.
- Geng, T., Kim, K.P., Sherman, D.M., Bashir, R., Ladisch, M.R., Bhunia, A.K. 2003. Expression of cellular antigens of *Listeria monocytogenes* that react with monoclonal antibodies C11E9 and EM-7G1 under acid-, salt- or temperature-induced stress environments. *J. Applied Microbiology*, 95: 762-772.
- He, Q., Shi, B., Yao, K. 2006. Interactions of gallotannins with proteins, amino acids, phospholipids and sugars. *Food Chemistry*, 95: 1178-1182.
- Henning, D.R., Baer, R.J., Hassan, A.N., Dave, R. 2006. Major Advances in Concentrated and Dry Milk Products. Cheese, and Milk Fat-Based Spreads. *J. Dairy Sci.*, 89: 1179-1188.
- Lin, Y., Chou, C. 2004. Effect of heat shock on thermal tolerance and susceptibility of *Listeria monocytogenes* to other environmental stresses. *Food Microbiology*, 21: 605-610.
- Phan-Thau, L., Mahouin, F., Aligé S. 2000. Acid responses of *Listeria monocytogenes*. *Int. J. Food Microbiology*, 55: 121-126.
- Sani, A.M., Ehsani, M.R., Asadi, M.M. 2005. Effect of Propionibacterium shermanii metabolites on sensory properties and shelf life of UF-Feta cheese. *Nutrition & Food Sci.*, 35 (2): 88-94.
- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C. 2005. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45: 287-306.
- Si, W., Gong, J., Tsao, R., Kalab, M., Yang, R., Yin, Y. 2006. Bioassay-guided purification and identification of antimicrobial components in chinese green tea extract. *J. Chromatography A*, 1125: 204-210.
- Zuckerman, H. and Ben Abraham, R. 2002. Control of growth of *L. monocytogenes* in fresh salmon using MicrogardTM and nisin. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 35: 543-548.

CARACTERIZACIÓN DE PATRONES MORFOMÉTRICOS DEL ARROZ PULIDO UTILIZANDO ANÁLISIS DIGITAL DE IMÁGENES.

¹Valenzuela Riaño Jackeline, ²Espinoza Mendoza Rosa Elena, ²Del Villar Martínez Alma, ²Arenas Ocampo Martha Lucía, ²Vanegas Espinosa Pablo, Solano Navarro Araceli y ²Jiménez-Aparicio Antonio

¹UNIVERSIDAD DE LA SABANA
FACULTAD DE INGENIERÍA

INGENIERÍA DE PRODUCCIÓN AGROINDUSTRIAL.

Chía, Puente del Común, Bogotá Colombia.

²INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

CENTRO DE DESARROLLO DE PRODUCTOS BIÓTICOS

Apartado Postal 24. Yauatepec, Morelos. México. C.P. 62731. (735)3942020. Fax: (735)3941896.

aaparici@ipn.mx.

MORELOS – MÉXICO

Palabras clave: Análisis digital de imágenes (ADI), Colorimetría, *Tagetes erecta*, *Tagetes pátula*.

RESUMEN

Utilizando el Reconocimiento de patrones y Análisis Digital de Imágenes (RP-ADI), se caracterizó el patrón morfométrico de granos de arroz (*Oriza sativa* L.) de diferentes marcas comerciales, comparándose con la variedad Morelos A98. Se analizaron los descriptores de longitud, espesor, anchura, área y perímetro así como los factores de forma, compacidad y elíptico. Se encontró que la mayoría de las marcas comerciales no cumplían las especificaciones para ser consideradas como variedad Morelos, de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana, a pesar de exhibir en sus etiquetas la denominación "Morelos" o "Tipo Morelos". El RP-ADI resultó ser una herramienta valiosa para caracterizar la morfología de arroz, con la cual es posible eliminar la subjetividad y automatizar las mediciones.

INTRODUCCIÓN

El arroz es el cereal de mayor consumo en el mundo ya que casi la mitad de la población lo consume. Se estima que la demanda de esta gramínea aumenta casi 2% anualmente, lo cual traerá como consecuencia que la producción deberá incrementarse por lo menos en un 60% para satisfacer la demanda del cereal en los próximos 20 a 30 años. En México, como en la mayoría de los países Latinoamericanos, el arroz ocupa un lugar preponderante en la producción de granos alimenticios ya que posee un alto valor alimenticio debido a la cantidad y calidad de proteínas, hidratos de carbono, vitaminas y minerales importantes para la dieta del ser humano. No obstante lo anterior, en México, se ha venido dando un fenómeno de pérdida de autosuficiencia arroceras, problemática que tiene su origen a fines de la década de los ochentas, producto de una importación indiscriminada de arroz. En la actualidad cerca del 70% del consumo mexicano de arroz es de origen estadounidense o asiático (Perales *et al.*, 2004). Estos productos llegan a México a un precio inferior al del arroz producido localmente, gracias a dos factores: a los subsidios en esos países y a que los costos de producción también son menores debido a la cosecha mecanizada.

Particularmente, esta situación afecta aún más a los productores de arroz del estado de Morelos, no obstante que la variedades producidas en dicho estado son de mejor calidad que el producido en el resto del país o incluso, que el importado. De hecho, el arroz 'Morelos' tiene problemas para competir en el mercado debido a los siguientes aspectos: a) el precio de las variedades de importación son de un costo inferior, b) al consumidor no se le proporciona suficiente información en el empaque de los productos o ésta, de existir es confusa y por lo tanto no le es posible distinguir las diferentes calidades de arroz y c) se abusa del reconocimiento que tiene el arroz de la variedad 'Morelos' a nivel Nacional, para ser utilizado, incluso fraudulentamente, en productos de menor calidad que contienen en ocasiones mezclas de granos importados y nacionales. En relación con este último aspecto, la Ley Federal de Variedades Vegetales del Gobierno de México, ha establecido

diversos procedimientos para la protección de variedades vegetales. De igual manera para el caso del arroz de variedad 'Morelos' existe una Norma oficial (NOM) que define las especificaciones fisicoquímicas comerciales con las que debe contar éste; sin embargo, las definiciones de algunos parámetros son imprecisas y subjetivas, por lo que la Norma pudiese ser objetada y no ser cumplida satisfactoriamente (Chavarro, 1998). En este sentido, el uso del Reconocimiento de Patrones aunado al Análisis de Imágenes Digitales (RP-AID) es una nueva herramienta que permite obtener, a partir de la imagen digital de un objeto, información detallada de una serie de parámetros, conocidos como descriptores. Entre otros se tienen el color, forma, tamaño, dimensiones y de regularidad e irregularidad de las formas. La investigación científica ha tenido importantes avances en los últimos tiempos gracias al desarrollo de herramientas que permiten obtener información de manera rápida y con mayor precisión (Davies, 2000). Estas herramientas están complementando y mejorando las técnicas rutinarias que en la actualidad se realizan manualmente; lo que provoca en muchos casos pérdidas de tiempo y errores en la adquisición de datos. Cabe señalar que la imagen digital se ha incorporado en su totalidad a diversas herramientas tales como la microscopía electrónica, confocal y óptica. Las ventajas de la imagen digital frente a la analógica vienen dadas por las múltiples posibilidades de manipulación que ofrece, ya que es una herramienta con la que es posible procesar y analizar una gran cantidad de objetos que han sido segmentados de tales imágenes. A partir éstos es posible obtener sus patrones, contar y medir su tamaño, forma, posición o densidad a través de cualquier computador complementado con un software adecuado de análisis de imágenes (Martínez-Nistal, 2001; Lira, 2002).

Esta herramienta podría coadyuvar a realizar una caracterización del arroz de la variedad 'Morelos' más completa, veraz, confiable y con la posibilidad de ser automatizada para su posterior comparación con otros materiales. Por tal motivo, en este trabajo se planteó establecer, validar y aplicar una técnica de caracterización colorimétrica y morfométrica del grano pulido de arroz utilizando RP-ADI y la posterior comparación de productos comerciales con la variedad 'Morelos'.

MATERIALES Y MÉTODOS.

a) Materiales.

Se seleccionaron once marcas comerciales de arroz pulido. Estas muestras se seleccionaron con base en los siguientes criterios: Que la marca comercial declarada en la etiqueta y/c publicidad contenida en el empaque correspondiente hiciera alusión al arroz "Morelos" o al arroz "tipo Morelos". Como estándar de comparación se utilizó arroz de la variedad Morelos A98. Las especificaciones morfométricas del arroz Morelos fueron obtenidas de la Norma Oficial Mexicana NOM-080-SCFI-1994. (Cuadro I).

Cuadro I. Características del arroz Morelos según la Norma Oficial Mexicana (NOM-080-SCFI-1994)

Característica	PALAI	INTEGRAL	PULIDO
Longitud (mm)	9,2	6,9	6,6
Anchura (mm)	3,0	2,4	2,0
Espesor (mm)	2,0	1,5	1,4
Centro blanco	12%	12%	12%
Color		Café claro	blanco a crema

b) Métodos.

Captura de las imágenes de los granos de arroz.- Se utilizó una cámara digital (Sony modelo Cyber-Shot) de 6 megapíxeles de resolución. Primeramente, se establecieron las condiciones de captura que fueron las siguientes: Apertura 5.8, ISO 200, luz difusa con dos iluminantes D65. La lente utilizada (Carl Zeiss, modelo Vario-Tessar) tenía una f 2.8 a 3.7 con un zoom 6-72. A continuación se determinó la distancia focal y el número de granos que podía abarcar en cada caso, el campo de captura de la cámara. Se utilizaron los siguientes acercamientos 2X, 4X, 6X, 8X y 10X. Se determinó si había diferencias en las mediciones realizadas a una porción de una escala conocida (regla con divisiones en milímetros) determinándose los píxeles que abarcaba tal escala. Posteriormente, conociendo el acercamiento se determinaba el valor teórico que debía ocupar tal escala (ppp), procediéndose entonces a compararlo con el valor real de la imagen. Con base en los resultados y el número de granos que el campo fotográfico era capaz de abarcar se seleccionó el acercamiento para la captura. Finalmente se capturaron las imágenes de los granos (200 por cada marca comercial), que fueron extraídos al azar de cada empaque. Para su captura, los granos de arroz se colocaron de manera longitudinal sobre un fondo negro (cartulina). Las imágenes capturadas se almacenaron digitalmente en color verdadero de 24 bits, RGB con un formato jpg de 640x480 píxeles y 300 píxeles por pulgada (ppp).

Captura de cortes transversales de granos de arroz.- Se hicieron cortes transversales de granos de arroz, utilizando un bisturí (hoja 4, mango 22), los cuales se colocaron de manera paralela a un fondo negro cartulina). Para la captura de las imágenes, se utilizó un microscopio estereoscópico marca Nikon (modelo ZM1500), con un objetivo 1X acoplado a un sistema de captura digital de imágenes (videocámara DAGE 300), utilizando una luz fría proyectada coaxialmente al objetivo del microscopio y colocando 20 granos en el campo óptico del microscopio. De igual manera, las imágenes capturadas se almacenaron digitalmente en color verdadero de 24 bits, RGB con un formato jpg de 640x480 píxeles y 300 píxeles por pulgada (ppp).

Digitalización. Una vez capturadas y almacenadas las imágenes, se procedió a digitalizarlas; para ello se pasaron a un formato digital bmp en escala de grises de 8 bits. Posteriormente a las imágenes correspondientes a cada grano de arroz se les realizó un ajuste en cuanto al contraste, brillo e intensidad para posteriormente segmentarlas (separarlas) de la imagen original y tenerlas como objetos independientes. Los granos de arroz digitalizados y separados, se pegaron en una nueva carpeta con fondo blanco de 640x480 píxeles y se guardaron en formato bmp en escala de grises de 8 bits. Todo ello utilizando el programa Corel PhotoPaint del Corel Draw. V 11.5.

Patrones Morfométricos.- La tercera etapa consistió en identificar los diferentes patrones morfométricos de los granos de arroz de cada marca comercial. Para ello, se utilizó el software Sigma Scan pro V.5.0 con el que se siguió la siguiente metodología: Al inicio se seleccionaron los diferentes patrones morfométricos a evaluar, los cuales fueron el largo, ancho, espesor así como el área, perímetro y los factores dimensionales de forma, compactación (o compactidad) y el elipsoidal. A continuación, se procedió a calibrar el sistema utilizando un referente (escala) de medición (imagen de la porción de un micrómetro graduado en décimas de milímetro, de 640x480 píxeles) determinando el número de píxeles necesario para abarcar 100 décimas de milímetro (1 cm). Finalmente, cada uno de los objetos fueron medidos con este software, almacenando los datos obtenidos en una hoja de cálculo de Excel.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

En el cuadro II se muestra un resumen de los patrones morfométricos de los granos de arroz, mientras que en el Cuadro III se consignan los resultados correspondientes a los diferentes patrones (factores) adimensionales evaluados; cabe señalar que a las distintas marcas comerciales se les asignó una letra diferente; siendo el control la variedad Morelos A98 (grafía A). Los datos obtenidos fueron comparados con la norma oficial NOM-080-SCFI-1994 consignada en el Cuadro I.

Cuadro II. Patrones morfométricos (promedio) del arroz pulido de diferentes marcas comerciales.

Muestra	Area	Perímetro	Logitud (mm)	Anchura (mm)	Espesor (mm)
A	12.900	16.074	6.601	2.352	1.954
B	12.452	15.486	6.291	2.360	1.848
C	10.237	13.552	5.340	2.324	1.671
D	10.654	13.999	5.553	2.310	1.827
E	8.868	13.557	5.608	1.911	1.577
F	8.632	13.285	5.474	1.910	1.691
G	8.615	13.324	5.538	1.893	1.534
H	8.940	13.564	5.623	1.925	1.671
I	10.054	13.447	5.288	2.300	1.81
J	9.124	13.599	5.596	1.962	1.559
K	8.423	13.242	5.503	1.856	

De acuerdo con estos resultados, se observó que solo la muestra A (control) y una marca comercial que en su etiqueta hacía alusión al arroz "Morelos" cumplían con la Norma Oficial Mexicana señalada anteriormente. Las demás muestras analizadas cumplían parcialmente o no cumplían con lo establecido por la Norma, siendo su calidad inferior, a pesar de tener declarado en su etiqueta que se trataba de arroz Morelos que hacía alusión a ello como "tipo Morelos". De los factores adimensionales evaluados, sólo el factor de forma elíptico resultó adecuado para establecer diferencias entre las variedades analizadas.

Cuadro III. Patrones (factores) adimensionales del arroz pulido de diferentes marcas comerciales.

Muestra	Compactidad	Factor Forma	Factor elíptico	Presencia de panza blanca
A	20.102	0.628	2.486	Si
B	19.353	0.653	2.517	Si
C	18.023	0.700	2.438	Parcial
D	18.494	0.683	2.443	Parcial
E	20.790	0.607	2.013	No
F	20.538	0.617	2.010	No
G	20.738	0.611	1.972	No
H	20.668	0.611	2.027	No
I	18.082	0.698	2.417	Parcial
J	20.359	0.620	2.074	No
K	20.911	0.604	1.947	No

En cuanto a la distribución de la longitud, del universo de la muestra analizada, en tres de las marcas comerciales sólo el 20% de los granos cumplían con esta característica, por lo que el promedio fue inferior a las dimensiones exigidas por la Norma. Esta situación indica que en estos casos pudiese tratarse de una mezcla de variedades. En el resto de las muestras analizadas en ningún caso se alcanzó la longitud mínima exigida por la norma. Una situación similar se presentó para la anchura. Con respecto a los cortes transversales (Figura 1a) sólo la muestra A (Control) y la marca comercial B exhibieron la "panza blanca" (Figura 1b) característica del arroz "Morelos", misma que se encuentra establecida en la Norma Oficial Mexicana antes señalada; las otras marcas comerciales o no presentaban tal característica o la presentaban parcialmente.



Figura 1. Cortes transversales de granos de arroz pulido a) Imagen capturada del microscopio estereoscópico y b) imágenes de la "panza blanca" binarizada.

Por lo anterior, este factor podría incorporarse a la NOM-080-SCFI-1994 como un parámetro adicional de calidad para la diferenciación de la variedad Morelos con otras que no lo son. Asimismo, es importante señalar que las evidencias fotográficas que se tienen hasta este momento parecen apuntar a que la variedad Morelos exhibe un patrón único repetitivo correspondiente a la morfología de la "panza blanca". Esta característica, de igual manera, pudiese ser un distintivo más de calidad para dicha variedad. Sin embargo es necesario validar experimentalmente tal característica, sugiriéndose se realice a través de herramientas analíticas modernas tales como el reconocimiento de patrones mediante análisis fractal de imágenes digitales (RP-AFID).

CONCLUSIONES

De lo anterior se desprende que del total de las marcas analizadas sólo el 10 % cumplieron con la norma oficial para el arroz pulido de la variedad Morelos, a pesar de que en sus etiquetas y/o publicidad de empaque hacen alusión a esta variedad o indican ser "tipo Morelos". Asimismo, de los factores adimensionales analizados sólo el factor elíptico resultó útil para establecer diferencias entre las variedades analizadas, a pesar de que los demás parámetros morfométricos eran diferentes.

AGRADECIMIENTOS.

A la Fundación Produce Morelos (FPM), SIP-IPN y Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Chavarro, J. 1998. El derecho de los obtenedores de nuevas variedades vegetales. Ecuador. [en línea] Disponible en: <http://www.cavelier.com/publicaciones/articulos/PDF/asipi>.
- Davies, E., 2000 Image Processing for the Food Industry. Series in Machine Perception And Artificial Intelligence Vol 37. Ed. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd. Singapur.
- Lira, C., 2002, Introducción al tratamiento digital de imágenes. IPN-UNAM-FCE. México.
- Norma Oficial Mexicana NOM -080-SCFI-1994, 1994. Información comercial, Arroz de las variedades Morelos - Especificaciones. Publicación de la Dirección General de Normas. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. México.
- Perales, A., García, R., Avila, J., Oble, E. y García, R. 2004. El impacto del TLCAN en la cadena agroalimentaria del arroz. Universidad Autónoma de Chapingo México

CARACTERIZACIÓN COLORIMÉTRICA DE *TAGETES ERECTA* Y *TAGETES PÁTULA* A TRAVÉS DEL ANÁLISIS DIGITAL DE IMÁGENES

¹Quintanilla Carvajal María Ximena, ²Del Villar Martínez, Alma, ²Arenas Ocampo, Martha Lucía y ²Jiménez-Aparicio Antonio

¹UNIVERSIDAD DE LA SABANA
FACULTAD DE INGENIERÍA

INGENIERÍA DE PRODUCCIÓN AGROINDUSTRIAL.

Chía, Puente del Común, Bogotá Colombia.

²INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

CENTRO DE DESARROLLO DE PRODUCTOS BIÓTICOS

Apartado Postal 24. Yautepec, Morelos. México. C.P. 62731. (735)3942020. Fax: (735)3941896.

aaparici@ipn.mx.

MORELOS – MÉXICO

Palabras clave: Análisis digital de imágenes (ADI), Colorimetría, *Tagetes erecta*, *Tagetes pátula*.

RESUMEN

En este trabajo se caracterizaron inflorescencias de cempaxúchil (*T. erecta* y *T. pátula*) a través de Análisis Digital de Imágenes ADI. Los colores de los capítulos florales se identificaron mediante coordenadas tricromáticas RGB y con el Atlas Munsell. Se desarrolló una herramienta que interrelacionó RGB y Munsell (software Prism@) el cual se validó con los datos obtenidos por el Sigma Scan V5.0. Se encontró que el sistema RGB fue el más adecuado, con el que se establecieron subclasificaciones por medio de pruebas *post-hoc* como Duncan y T- Student con un grado de confiabilidad del 95%.

INTRODUCCIÓN

Cada vez son más los usos que se le dan a diferentes especies vegetales para el beneficio del hombre. En la actualidad, las potencialidades del cempaxúchil y el cempaxúchil cimarrón (*Tagetes erecta* L.) han despertado la inquietud de convertir a México en el principal conector y administrador de sus recursos naturales por ser centro de origen de la planta (Serrato, 2004). También conocida como Flor del Muerto, el cempaxúchil se caracteriza por sus propiedades químicas y su coloración ya que de los capítulos florales es posible obtener carotenoides que se utilizan en la pigmentación de la piel y la carne del pollo así como en la yema del huevo (Rodríguez, 2000). Pero las propiedades del cempaxúchil y en general del género *Tagetes* no se limitan al sector alimentario por ejemplo, extractos de diferentes partes de las plantas de tal género muestran actividad nematocida, fungicida e insecticida (Vasudevan, 1997). Desde el punto de vista terapéutico una de las principales propiedades de los pigmentos de la flor es su aporte como antioxidante de células humanas así como su actividad provitamina A (Serrato, 2004).

Ahora bien, los carotenoides de la flor del cempaxúchil y del género *Tagetes*, se generan en la ruta metabólica de los isoprenoides; la separación, identificación y cuantificación de éstos se puede realizar a través de diversas técnicas, principalmente la cromatografía líquida de alta resolución (CLAR), resonancia magnética nuclear (RMN) y espectroscopia Raman (Delgado y Paredes, 1996). Otras técnicas más simples y económicas incluyen la espectroscopia visible, cromatografía en capa fina y el análisis de sus características colorimétricas. Esta última es la que se propone en este trabajo, donde el análisis digital de imágenes (ADI) puede ser una herramienta novedosa y útil. Así mismo, el tratamiento de imágenes permite que se entienda más a fondo la esencia de un objeto a medida que se conocen sus características de psicovisión (Lira, 2002).

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico y medio de cultivo

Los materiales biológicos utilizados fueron: a) inflorescencias de *Tagetes erecta* cuya apariencia visual eran de color blanco,

amarillo y naranja con capítulos florales dobles, simples y apétalos y b) inflorescencias de *Tagetes pátula* de color amarillo y rojo. Este material se obtuvo de dos diferentes fuentes: a) de una colecta Nacional cuyo germoplasma se cultivó durante los meses junio a noviembre del 2006 en los campos experimentales de la Universidad Autónoma de Chapingo (Estado de México) y de un Invernadero comercial en la Ciudad de Cuautla (Morelos).

Se trabajó con un total de de 7 a 22 capítulos dependiendo de la disponibilidad de la variedad Se estimó que el número de objetos fuera el suficiente como para que el error típico estuviera alrededor de $\geq 8\%$ (Alvarado y Aguilera, 2001).

La fotocaptura de imágenes se realizó de dos formas diferentes: Los capítulos florales completos se separaron de los tallos de la planta, mediante un corte paralelo a la base del capítulo; éstos se colocaron sobre una base de color negro mate. La captura de las imágenes se hizo con una cámara reflex digital (Nikon D50), ASA 200, f/2.8, exposición con luz diurna indirecta y distancia focal constante; la captura se hizo perpendicular al objeto.

Las imágenes se almacenaron digitalmente en una PC (genérica), para su estandarización. Este procedimiento se hizo con el Corel Photo Paint (V.11.5), con el que se logró segmentar individualmente cada capítulo floral. Con el software Sigma Scan Pro (V.5.0) se evaluaron los valores tricromáticos RGB (rojo, verde y azul por sus siglas en inglés) y se realizó su respectivo análisis estadístico (Promedio, desviación estándar y error típico). Para el análisis con Munsell, se utilizó un atlas de color para tejidos vegetales, al cual se le escaneó cada uno de los colores, se les determinó su composición RGB y se construyó una base de datos en Excel (Microsoft).

Con los datos obtenidos, se estructuró un Software que se denominó 'Prism@' utilizando los lenguajes C++ y C Visual. El programa tuvo la finalidad de realizar la interconversión entre las unidades colorimétricas más utilizadas: RGB y adicionalmente se incluyeron los valores del Atlas de Munsell para tejidos vegetales, debido a que este sistema por comparación visual es uno de los más utilizados. El programa adicionalmente hace interconversiones con *Lab*, y XYZ (Jiménez y Gutiérrez, 2002). Para ello, Prism@ se desarrolló en una plataforma de Microsoft (Framework V.2.0) de tal manera que permitiese relacionar las diferentes constantes de conversión de los sistemas antes señalados y que adicionalmente mostrase los colores Munsell del Atlas y los colores RGB en sendas ventanas del programa.

Mediante controles deslizables era posible modificar los valores RGB, mientras que en una tercera ventana aparecían simultáneamente los valores calculados correspondientes para *Lab*, y XYZ. Posteriormente se procedió a validar estadísticamente al programa utilizando pruebas paramétricas (Duncan, T- student) y no paramétricas (Kruskal Wallis) para evaluar diferencias con un grado de confiabilidad del 95% y un error mínimo al 8%. Tales pruebas se realizaron en el Programa SPSS (V 11.5) y Sigma Stat.

RESULTADOS

Colorimetría Munsell

De acuerdo a lo sugerido por Zsila *et al.* (2001), de manera visual fue posible establecer cuatro subgrupos, uno correspondiente a los capítulos blancos (F5A), otro con los capítulos más amarillos (F5B y F6A), uno más con los capítulos amarillo-naranja (F5C, F5D y F5E) y finalmente uno rojo (F6B); aunque F5C se pudiese considerar como una transición entre amarillo y los amarillo-naranja. Es importante mencionar que esta clasificación se hizo de manera subjetiva y por lo tanto fue dependiente del criterio del observador. (Figura 1 y 2).

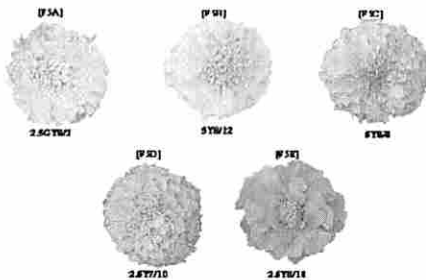


Figura 1. Imágenes de los capítulos florales de *Tagetes erecta* con sus correspondientes valores colorimétricos Munsell (en negritas): Blanco (F5A) [2.5GY8/2], Amarillo claro (F5B) [5Y8/12], Amarillo (F5C) [5Y8/8], Amarillo oscuro (F5D) [2.5Y7/10] y Naranja (F5E) [2.5Y8/10]. (Las claves para su identificación posterior se muestran entre paréntesis)

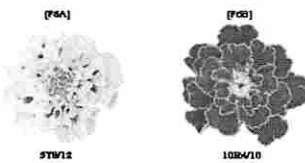


Figura 2. Imágenes de los capítulos florales de *Tagetes pátula* con sus correspondientes valores colorimétricos Munsell (en negritas): Amarillo (F6A) [5Y8/12] y Rojo (F6B) [10R4/10]. (Las claves para su identificación posterior se muestran entre paréntesis)

En el caso del sistema Munsell, la notación está dada por los valores H/V/C que corresponden, por sus siglas en inglés, a los valores de 'Hue' o color cromático principal y la tonalidad de ese color dada por el aporte del 'Value' o luminosidad y del 'Chroma' que se refiere a la intensidad del color. Como es posible observar, en todos los casos los capítulos se clasificaron dentro del grupo "Y", correspondiente al amarillo, excepto F6B cuyo color se situó en el rojo ("R").

No obstante de tener una misma cromaticidad de la coloración principal, los distintos capítulos se diferenciaron en cuanto a la tonalidad que exhibieron. En este sentido, F5C, F5D y F6A presentaron el mayor aporte de amarillo (5Y, equivalente a H=5), seguidos de F5D y F5E (2.5Y). No obstante, F5B presentó un mayor valor de croma (C=12), lo que indica que el color amarillo está en un mayor nivel de saturación, no obstante de presentar un mismo valor de luminosidad (H=8).

Con base en el valor de la característica cromática H, el sistema Munsell permitió establecer cuatro distintos grupos, uno formado por F5A, otro por F5B, F5C y F6A un tercero por F5D y F5E y el último por F6B.

Colorimetría desarrollada por el programa Prism@

Se encontraron mínimas diferencias al comparar los resultados del color obtenidas por un observador en el sistema Munsell, frente a los resultados que arrojó Prism@. Por ejemplo, para el caso de F5A los colores fueron semejantes; en F5B el amarillo también fue similar aunque más opaco; en F5C la intensidad se mostró más clara, mientras que para F5D Prism@ señaló que el color es más naranja que amarillo. Para el último grupo de *T. erecta*, F5E, el naranja de Prism@ es más opaco. Para los dos

grupos de *T. pátula* las observaciones realizadas son coincidentes con las del programa Prism@.

Al comparar los resultados entre RGB experimental y RGB Munsell para cada uno de los valores por medio de una prueba t de student se encontraron diferencias significativas en los capítulos de F5E y F6B; sin embargo para los otros capítulos no hay evidencia suficiente para rechazar la hipótesis de igualdad de medias.

Colorimetría RGB

Fue posible observar de manera general el color cromático que impactó mayoritariamente en el color característico de cada grupo sugerido es el rojo (R), seguido del verde (G) y finalmente, el azul (B).

Cabe señalar que el valor de B parece tener una participación muy limitada en el color que exhibe cada capítulo, excepto en el capítulo blanco en el que el valor de B hace que el color se desplace a ser un amarillo verdoso pálido.

Los capítulos de color naranja presentaron la menor proporción de G y B; a medida que el color se desplazó hacia el amarillo, el aporte de G incrementó su valor. Para el capítulo rojo, R fue el valor más representativo del capítulo, dejando a G y a B con una participación mínima. A partir de estos resultados, se analizó estadísticamente el aporte de R, G y B en el color total de cada uno de los capítulos, con el objeto de establecer una posible subclasificación correspondiente, de manera similar a lo obtenido para el aspecto visual y los valores Munsell.

Evaluación estadística de R, G y B.

Con base en estos resultados fue posible evidenciar 4 subconjuntos basándose en el valor de R. El primer subconjunto fue conformado por los capítulos blancos (F5A, R=155) y el segundo subconjunto estuvo integrado por los capítulos de *T. pátula* de color rojo (F6B). Estos dos primeros subconjuntos, per se presentaron una apariencia visual totalmente diferente de los demás capítulos florales.

Los siguientes dos subconjuntos se formaron con los capítulos amarillos (F5B, F5C y F5D) los cuales presentaron valores de R entre 222 y 230; así como un cuarto constituido por capítulos anaranjados (F5E y F6A), cuyos valores de R se situaron entre 238 y 243. Para poder establecer los rangos en los que el valor de R se encontraba, se consideró oportuno presentar los intervalos de confianza de los subconjuntos obtenidos

Se encontraron diferencias significativas entre todos los capítulos con la excepción del último subconjunto conformado por los capítulos de *T. pátula* (F6A) y los amarillos de *T. erecta* (F5B). Para estas dos variedades el valor de G fue mayor estadísticamente que en los otros capítulos; no obstante de estas diferencias, el valor de R continuó siendo el que mayor ponderación tuvo en la expresión visual del color.

Con relación al valor G el análisis sugirió establecer seis subconjuntos, en los que únicamente F5B y F6A están agrupados en uno solo subconjunto; este aspecto fue producto de las diferencias entre las medias de los valores de G, las cuales fueron estadísticamente significativas.

Con relación al valor de B, ésta fue la coordenada tricromática que presentó los menores valores numéricos en el color de los capítulos florales, lo que en un primer análisis estaría indicando que la croma azul probablemente podría no tener una participación determinante en el color de los capítulos.

De esta manera los datos arrojados por el análisis estadístico permitieron conformar cuatro subconjuntos, uno con los capítulos de *T. erecta* amarillo claro (F5C), amarillo (F5D) y amarillo oscuro (F5E); seguido de un segundo subconjunto formado únicamente por los capítulos blancos (F5A). El tercer subconjunto correspondió a *T. erecta* naranja (F5B) y *T. pátula* amarilla (F6A) y un último subconjunto en el que únicamente se encontraba *T. pátula* roja (F6B). Esta subclasificación coincidió con la realizada de manera visual, a diferencia de lo observado con R y G.

Los resultados anteriores mostraron que los subconjuntos que se establecieron analizando R, G o B de manera individual fueron diferentes entre sí, por lo que se consideró importante efectuar un análisis estadístico que permitiese establecer la ponderación del aporte de R, G o B en el color global de los capítulos florales. Para tal efecto, se decidió aplicar un análisis de varianza de una sola vía, verificando primeramente que los datos cumplieran una distribución normal o que se cumpliera la igualdad de varianzas. Al no ser así entonces se aplicó la prueba

análoga no paramétrica de Kruskal-Wallis (Gómez, 2003) cuyos resultados se muestran en el Cuadro I.

Cuadro I. Análisis de la ponderación de R, G o B en el color global de los capítulos

CAPÍTULOS	R	% ^a	G	%	B	%
F5A	156.24	38	154.27	37	103.49	25
F5B	233.200	60	148.475	38	6.820	2
F5C	242.645	66	117.265	32	6.960	2
F5D	222.804	55	174.269	43	7.737	2
F5E	223.140	50	197.290	44	28.694	6
F6A	238.694	50	204.050	43	31.358	7
F6B	211.670	79	43.650	16	13.620	5

Valor correspondiente al aporte de R, G ó B (según sea el caso) en el color total

De acuerdo con lo anterior, la coordenada cromática que tuvo un mayor aporte en el color global de los capítulos florales fue R. Por esta razón, se eligió la subclasificación propuesta con base en este valor, y la cual adicionalmente, se sugiere sea utilizada para la clasificación colorimétrica de los capítulos florales de *Tagetes*, a partir de imágenes digitales capturadas bajo las condiciones señaladas en el capítulo de Materiales y Métodos.

CONCLUSIONES

Los resultados de colorimetría obtenidos con el software 'Prism@' que fue desarrollado como parte de este trabajo, tuvieron una correlación adecuada con los parámetros de color RGB y a su vez permitió incorporar e identificar los colores de acuerdo al Atlas visual 'Munsell'.

Otra característica favorable de 'Prism@' fue la de obtener un valor cuantitativo en coordenadas colorimétricas ampliamente utilizadas en colorímetros universales a partir de una carta de color comparativa (subjetiva) por medio de la conversión de coordenadas de color; además la versatilidad del programa permite incrementar la base de datos de color con que cuenta, a medida que se obtengan mas valores provenientes de los atlas colorimétricos.

Se consiguió establecer una subclasificación de los capítulos de *Tagetes erecta* y *Tagetes pátula* a través de sus características colorimétricas. RGB resultó ser el sistema de coordenadas mas eficaz para establecer una subclasificación congruente con la subjetiva que fue emitida por el observador. R (rojo) y B (azul) fueron los parámetros que se encontraron determinantes a la hora de establecer la subclasificación.

Con base en R se evidenciaron 4 subconjuntos, uno de los capítulos blancos, otro por los capítulos rojos de *T. pátula*, un tercero por capítulos amarillos y un cuarto por capítulos naranjas, concluyendo así que tanto visual como estadísticamente se encuentran diferencias significativas en estos capítulos. Para B también se encontraron cuatro subconjuntos, uno con los capítulos de *T. erecta* amarillo claro, amarillo y amarillo oscuro; el segundo subconjunto formado únicamente por los capítulos blancos; el tercer subconjunto correspondió a *T. erecta* naranja y *T. pátula* amarilla y un último subconjunto de los rojos de *T. pátula* roja.

AGRADECIMIENTOS

Proyectos CONACYT 43862 "Transformación genética de cempaxúchil para la obtención de astaxantina, un pigmento con características de antioxidante".

BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS

- Alvarado, J. y Aguilera J. 2001. Métodos para medir propiedades físicas en industrias de alimentos. Ed Acribia S.A. España.
- Davies, E. R. 2000. Image processing for the food industry. World Scientific. Singapore, New Jersey y Hong Kong. Introducción.
- Delgado, V.F., Jiménez, A.R. y Paredes L.O; 2000. Nature Pigments: Carotenoids, Anthocyanins and Betalains. Characteristics, biosynthesis, processing and nutritional aspects. Critical reviews in food science and nutrition 40 (3): 173-289
- Lira, J. 2002. Introducción al tratamiento digital de imágenes. Ciencia de la Computación. México. Capítulo Descriptores Morfológicos.
- Serrato, M. A. 2004. Cempoalxóchitl diversidad biológica y usos. Ciencia y desarrollo en Internet Dirección electrónica [http://www.conacyt.mx/comunicacion/revista/ArticulosCompletos/pdf/Cempoalxochitl.pdf] Julio Agosto.
- Vasudevan, P., Kashyap S. y Sharma S. 1997. *Tagetes*: a multipurpose plant. Centre for rural development and appropriate technology, Indian Institute of Technology 29-35
- Zsila, F., Deli, J. y Simonyi, M. 2001. Color and Chirality: carotenoid self-assemblies in flower petals. *Planta* 213:937-942.

RECOVERY OF NUTRACEUTICALS FROM GRAIN SORGHUM AND ITS DDGS

Carolina Leguizamón, Curtis L Weller, Vicki L Schlegel, Timothy P. Carr.

University of Nebraska-Lincoln, Department of Food Science and Technology, Lincoln, NE 68583-0919

Keywords: Food processing and sub-products, Grain sorghum, DDGS, Plant sterols, Policosanols, Soxtec.

ABSTRACT

Grain sorghum is a starch-rich and drought tolerant cereal. It can be grown in dry regions where it is not viable to grow other crops. The main use of grain sorghum in Western Hemisphere countries is as animal feed. Hexane extracts of grain sorghum and its DDGS (a by-product of the ethanol production from cereals) have been found to contain policosanols and plant sterols among other compounds. Several studies have shown that policosanols and plant sterols reduce LDL cholesterol levels and inhibit total cholesterol synthesis in humans and animals. New functional foods based on grain sorghum and/or its DDGS can be developed to use of the lowering cholesterol properties of these compounds. Different studies were conducted in order to assess the feasibility of the extraction and isolation of these compounds from grain sorghum and its DDGS. Two methods of extraction were used (reflux and soxtec). Parameters of operation for the extraction methods such as time of extraction and form of the kernel (whole or ground) were evaluated.

Additionally, a comparison study of recovery was performed. Maize and its DDGS were extracted under the same conditions as grain sorghum and its DDGS. The three major sterol compounds in the lipid extracts of maize and grain sorghum were sitosterol, campesterol, and stigmasterol. Maize as well as its DDGS contained larger amounts of sterols than grain sorghum and its DDGS. However the amounts of sterols from grain sorghum are of the same order of magnitude as those of maize. The time of extraction seemed not to have an effect on the amount of sterols recovered. However, the method of extraction used had an effect on the recovered amounts of sterols. Larger amounts of sterols were obtained by the reflux method. TLC analysis revealed the presence of policosanols in the lipid extracts of all the grain samples analyzed.

INTRODUCTION

The dilemma of assigning maize for food or fuel is taking relevance. Additionally, maize is a high water demanding crop and shortage of water resources is a current issue. There is a need for alternative crops than can offer some relief to the demand of maize either for human food, animal feed or ethanol production. Additionally, diversifying the types of crops grown will help to insure against catastrophic losses caused by weather or disease.

Grain sorghum is a drought tolerant crop. It can be grown easily in rough places with limiting water resources thus, making it an alternative crop to cultivate in places where other cereals can not be grown. Furthermore, grain sorghum shares some properties with maize, both are starch rich cereals, and they are used for animal feed and ethanol production. Although it is nutritionally comparable to maize, grain sorghum is misconceived as an inferior grain (Kulp and Ponte 2000).

Grain sorghum is a crop with many food and non-food applications. Several countries in Africa use it in diverse forms such as flour, porridges, beverages, snack foods, boiled and steamed products among others (Anonymous 1995). However, grain sorghum is currently underutilized for food uses as major producers of sorghum in the world such as the U.S. and Mexico (Anonymous 1995) use grain sorghum mainly for animal feed and lately for ethanol production. Grain sorghum, along with other cereals, contain valuable nutritional compounds apart from starch such as proteins, phenolic acids, tannins, anthocyanins, phytosterols and policosanols (Awika and Rooney 2004; Wang and Weller 2006).

Furthermore, during the fermentation process for producing ethanol from grains, the compounds different from starch are concentrated by a factor of three. The yeast is assumed to use just the starch of the grain in the process. The remaining compounds are concentrated in the DDGS (dry distillers grains with solubles), a major byproduct from the ethanol production, which is also mostly used for cattle feed. Moreover, Hwang and others (2002a; 2002b) showed that grain sorghum wax is chemically similar to carnauba wax, a wax widely used in several industries and imported to the U.S. from Brazil.

Recent studies on grain sorghum (Singh and others 2003) and DDGS (Wang and others 2005) found that hexane extracts of grain sorghum and DDGS are a potential source of nutraceuticals, particularly plant sterols and policosanols (Hwang and others 2004), compounds of special interest for human health. Carr and others (2005) showed that grain sorghum lipid extracts, containing known amounts of policosanols and plant sterols, administered to hamsters reduced cholesterol absorption and plasma non-HDL (high density lipoprotein) cholesterol concentration.

High LDL cholesterol levels have been recognized to be the major contributor to cardiovascular disease, which is a major health concern in developed countries. Several studies have shown that policosanols and plant sterols have the capacity of lower total cholesterol and LDL (low density lipoprotein) cholesterol in humans as well as animals, through different mechanisms.

Policosanols are mixture of high molecular weight aliphatic alcohols, also called fatty alcohols, with chain lengths that vary from 24 to 34 carbon atoms. The most abundant alcohol is octacosanol with a 28 carbon chain (Pepping 2003). The mechanism of action for the cholesterol-lowering activity is not totally understood, a suggested mechanism consists of cholesterol synthesis inhibition and enhancement of LDL cholesterol degradation. Furthermore, several studies have reported the lowering-cholesterol properties of policosanols (Gouni-Berthold and Berthold 2002; Varady and others 2003). The use of policosanols as a drug product was first approved in Cuba, and nowadays it is commercialized mostly in Caribbean and South American countries. The action of policosanols is often compared to statins.

Similarly, several studies have demonstrated the cholesterol-lowering properties of phytosterols (Nguyen 1999; Ostlund and others 2002). Phytosterols are cholesterol-like molecules found in most plant foods. Their chemical structure is analogous to cholesterol. Thus, it is speculated that their mechanism of action inhibits cholesterol absorption due to better affinity for plant sterols; especially sitosterol which is the most abundant sterol in plant foods. Other frequent sterol molecules in plants are campesterol, stigmasterol and brassicasterol. Failure to absorb intestinal cholesterol results in an elimination of excess cholesterol from the body (Ostlund 2002). Many studies have investigated amounts of total sterols in different plant sources. Phillips and others (2002) examined the free and esterified composition of edible oils and fats. Primrose oil, rapeseed oil and maize oil are among the vegetable oils that contain the largest amounts of sterols. Data on amounts of phytosterols in grain sorghum and DDGS sorghum are limited.

Summarizing findings from several clinical studies, a reduction of about 10% in LDL cholesterol can be obtained when a dose of about 2g/day of plant sterols is administered (Ostlund 2002). In fact, the FDA has already approved the health claim: "400 mg per serving of free phytosterols taken twice a day with meals as part of a diet low in saturated fat and cholesterol may reduce the risk of heart disease" in products containing sterols. Moreover, the European Commission

approved the addition of plant sterols and stanols to a range of foods in maximum doses of 3g/day (<http://www.eufic.org/article/en/artid/plant-sterols-stanols-cholesterol/>, July 13th, 2007).

If extraction and isolation of reasonable amounts of plant sterols and policosanols are found to be practical, numerous applications for grain sorghum as well as sorghum DDGS as additives enhancing health benefits of food products or nutritional supplements may be feasible. However, much research needs to be completed in order to find the appropriate methods of extraction and isolation.

During the optimization of these methods, it will be important to take into account reduction of raw material losses, energy consumption, and purification and waste disposal costs, as part of more efficient engineering. (Noble and Agrawal 2005).

In order to assess the practicality of the process of extraction of lipids from grain sorghum and sorghum DDGS, it is crucial to examine parameters of extraction and their influence on the recovery yields. The purpose of this study was to examine selected parameters of the extraction of lipids from grain sorghum and sorghum DDGS with hexane solvent by the reflux and soxtec methods. Additionally, evaluation of the effect of the variation of these parameters on the amount of plant sterols and policosanols recovered was conducted.

A primary study analyzed the time of extraction used for the reflux method and its influence on the amount of lipids, plant sterols and policosanols recovered from DDGS. A second complementary study compared the amounts of lipids and plant sterols recovered after extraction from grain sorghum and maize, as well as their respective DDGS, by reflux and soxtec method. Also, as part of this study, influence of the form of the grain (ground or whole) was analyzed.

Further study will examine the amounts of policosanols and plant sterols recovered as influenced by the temperature of the heating system using soxtec method.

MATERIALS AND METHODS

-Sorghum and its DDGS, maize and its DDGS

The grains used for the different studies were a food grade grain sorghum and a yellow dent maize hybrid, Pioneer 3363. The sorghum DDGS were obtained from the ethanol production facility of U.S. Energy Partners in Russell, KS that processes mixed commercial grain sorghum hybrids. The maize DDGS was obtained from an ethanol production facility of Nebraska Energy LLC (Aurora, NE).

Whole kernels of maize were ground with a Schutte Buffalo Hammer Mill (Model W64, Buffalo, NY). Grain sorghum whole kernels were ground with a Kitchen Aid Blade Coffee Grinder (200W, St. Joseph, MI)

An ASAE standard sieving procedure (ANSI/ASAE S319.3 Feb03) was followed to determine the particle size distribution of the ground grains. A sieve shaker (Ro-Tap, W.S. Tyler, Cleveland, OH) equipped with 10 sieves (U.S.A. Standard No. 12, 16, 20, 30, 40, 50, 70, 100, 140 and 200) and a pan were used for the procedure.

The moisture content of the grain samples was measured following the ASAE S352.2 Standard Method (103°C for 72 hrs in a convection oven)

-Reflux extraction

Reflux extraction followed the procedure as described by Christiansen (2006). A solvent to solid ratio of 3:1 was used (Wang and others 2005). For the study of influence of time of extraction on lipids recovery, times of extraction of 0.5, 1, 2, 4 and 6 hrs were used. For the method comparison study, the time of extraction used was 1 hr. Extracted lipids dissolved in the hexane solvent were recovered by using a rotary evaporator (Büchi Model R-200, Flawil, Switzerland). Lipids samples were stored in a freezer at -10° C until further analysis.

-Soxtec extraction

A soxtec extractor (Foss Tecator Soxtec HT 6, Höganäs, Sweden) was used to extract lipids from the grain samples. The soxtec extraction followed the procedure as described by Christiansen (2006). Hexane solvent was refluxed in the extractor for 1 hr and then used for rinsing for 2 hrs. Several

extractions of the grains were carried out until an appreciable amount of lipids necessary for further analysis were obtained. Lipids samples were stored in a freezer at -10° C until further use.

-TLC method

The simple lipid profile of the lipid extracts was determined using a TLC method. Standards for TLC analysis were purchased from Acros (Somerville, N.J.) The standard solution contained: triglycerides, 1,2 diglycerides, 1,3 diglycerides, monoglycerides, policosanols, cholesterol, free fatty acids and tocopherol. The n-hexane (EM Science industrial grade) was purchased from Fisher Scientific (Pittsburgh, PA.). The procedure followed was described by Wang and others (2005). Images of the plate were obtained using a densitometer (Kodak Gel Logic 440 Imaging System, Rochester, NY) interfaced with image analysis software (Kodak 1D 3.6).

-GC method.

The analysis of total plant sterol content of the lipid extracts was carried out using a GC method. Detailed method used as described by Christiansen (2006).

RESULTS AND DISCUSSION

-Influence of time of extraction on extraction by reflux method

The amount of lipids recovered from sorghum DDGS for each time of extraction using the reflux method ranged from 4.44 to 5.47 g of lipids/100 g of dry DDGS sorghum. The amount of lipids recovered tended to increase with the time of extraction; however, differences among lipid yields for times of extraction used were not significant (p=0.49). The maximum lipid yield was obtained at a time of extraction of 4 hours. Therefore, in the comparison study, a time of extraction of 1 hr was chosen for convenience given the fact that the differences due to time were not significant.

A chemical profile of the lipids extracted was obtained by a TLC method. When the spots obtained from the DDGS samples were compared to the spots obtained from the standard solution, it was observed that the hexane extracts from sorghum DDGS contained diglycerides, free sterols, policosanols, free fatty acids, triglycerides, wax esters and hydrocarbons.

Amounts recovered of sterols and policosanols at the different times of extraction used are reported in Table 1. The differences among the amounts of sterols recovered, for the seven times of extraction used, are not considerable.

Table 1. Amount of policosanols and plant sterols in DDGS sorghum lipids extracted at different times of extraction

Time (h)	Total sterols ¹ (g/100g lipids)	Policosanols ² (g/100g of lipids)
0.5	0.458	2.46
1.0	0.479	3.00
2.0	0.430	5.39
4.0	0.420	2.18
6.0	0.485	3.09

¹Analysis of amount of plant sterols recovered was done by GC.

²Analysis of amount policosanols was done by TLC/ Densitometry method.

Even though the maximum amount of sterols recovered was obtained after 6 hours of extraction, a similar amount was also recovered after 1 hour of extraction. Data in Table 1 suggests that the amount of sterols recovered is not markedly influenced by the time of extraction when the reflux method was used.

The amounts of policosanols recovered shown in Table 1 are a result of a TLC/Densitometry analysis, which is a preliminary analysis, and therefore no major conclusions can be made from this analysis. Policosanols are present in the lipid extracts in amounts ranging from 2.18 to 5.39 g/ 100 g of lipids. A GC method for analysis of policosanols in lipid extracts is being developed and should provide more accurate values.

The sterols that constitute a portion of the lipid extract can be characterized by a GC method. The different sterols that comprised the total sterols in the DDGS sorghum extracts are shown in Figure 1. As can be seen in Figure 1, sitosterol is the most abundant sterol in the DDGS sorghum extracts (43% average), followed by stigmaterol (39% average) and campesterol (18% average). These results were expected since

sitosterol and campesterol are the predominant plant sterols in vegetable oils and fats (Phillips and others 2002). The effect of time of extraction on the amounts recovered of each sterol is not significant. Thus, short times such as 0.5 h can be used to extract total plant sterols from DDGS sorghum by soxtec method.

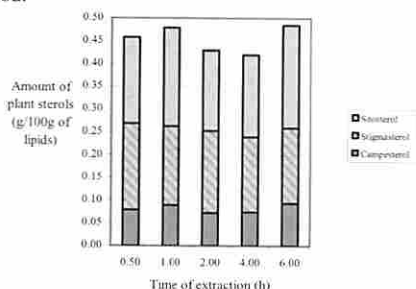


Figure 1. Characterization of total plant sterols in the DDGS sorghum extracts at the different times of extraction.

-Comparison study

In order to compare the differences among lipid yields obtained using different methods of extraction (reflux and soxtec), as well as form of the grains (whole and ground) and sort of grain (maize, grain sorghum, maize DDGS and sorghum DDGS) a series of extractions were performed. Samples of whole kernels of maize, whole kernels of grain sorghum, ground maize kernels, ground grain sorghum kernels, maize DDGS and sorghum DDGS were extracted separately using reflux and soxtec methods.

The lipid recovery yields from the extractions of the different grains by the two methods studied (soxtec and reflux) are shown in Figure 2. As can be seen in Figure 2, when the soxtec method was used, larger amount of lipids were extracted for all the grains included in the study, as compared to the reflux method values. The amounts of lipids recovered by soxtec method were, for most of the grains, about 1.5 times larger than the amount of lipids recovered by reflux method. Possible explanation for this difference is that the soxtec method includes a rinsing step, where "clean" solvent comes in contact with the grain samples, thus extracting lipids that could have not been dissolved in the boiling step due to possible saturation of the solvent. In contrast, in the reflux method the solids are in contact with the boiling solvent, during the whole extraction. As the extraction proceeded, potential for lipids to solubilize in the solvent was reduced.

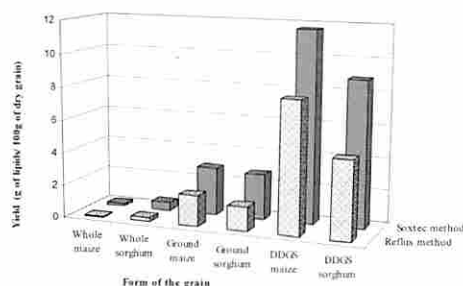


Figure 2: Yield of lipids extracted from maize and sorghum at two different forms (whole and ground), maize DDGS and sorghum DDGS by two methods of extraction (soxtec and reflux)

The amounts of lipids extracted from ground maize and maize DDGS exceeded amounts of lipids extracted from ground grain sorghum and sorghum DDGS respectively for the two methods. For the whole forms, a different situation was observed; larger amounts of lipids were recovered from grain sorghum than from maize. A larger recovery of lipids from maize was expected since the portion of lipids in maize is larger than that in grain sorghum. Most of the lipids in maize are in the germ and the germ of the maize constitutes about 12% of the kernel while in sorghum the germ, where most of the lipids are located, constitutes a 3% of the kernel.

The larger recovery from whole grain sorghum than from whole maize indicates the complexity of extracting whole maize kernels compared to whole grain sorghum kernels. The greater amount of lipids extracted from whole kernel grain sorghum likely was due to the greater amount of lipids on the surface of grain sorghum kernels as compared to those on the surface of maize kernels.

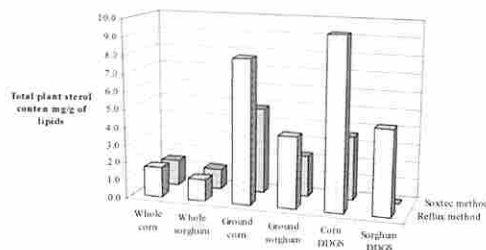


Figure 3. Total plant sterol content of maize and sorghum at two forms (whole and ground) and their respective DDGS.

Among all the forms of the grains used, recovery yields from the DDGS forms were the highest. This result confirms the fact that after the fermentation process the compounds different from starch are more concentrated in the DDGS. Therefore DDGS is an attractive "raw material" for the extraction of plant sterols and policosanols. Recovery of lipids from maize DDGS overcame recovery of lipids from sorghum DDGS. However, there are differences between the extracts from sorghum DDGS and the extracts from maize DDGS because of their lipid distribution. Lipid extracts from maize DDGS are more liquid, and of an oily nature, than lipid extracts from sorghum DDGS.

It can be seen from Figure 3, for all the forms of the grains used in this study, the total plant sterol content was higher in extracts derived from maize than those derived from grain sorghum.

Contrary to what was expected, more sterols were extracted by the reflux method than by the soxtec method. The soxtec method is characterized as being able to obtain high yields of lipids in a short time (Membrado and others 1996). Two possible factors that might have caused this result are: the high temperature used for the soxtec extraction may have altered the sterols or the solvent might have become saturated with lipids and no more lipids could be extracted. However, the ratio of lipids to solvent seems too little, the maximum amount extracted with 50 ml of hexane was 0.5 g from maize DDGS, so saturation of the solvent might be improbable. For the whole forms the differences in amounts extracted are not so pronounced, a study of saturation of the solvent may be conducted as recommended by Membrado and others (1996).

The composition of sterols in the extracts from the different grains and from the two extraction methods was obtained by the GC method. For all the forms, larger amounts of each compound were recovered from the reflux method than with the soxtec method. This result confirms the need for a study of the influence of temperature by soxtec method on the recovery of sterols.

As it was expected, in most of the extracts the predominant compound was sitosterol. The amount of sitosterol recovered is larger for the DDGS and the ground forms, which may indicate that this compound is mostly located in the inner parts of the kernels. Maize derivate grains contain larger amounts of sitosterol than grain sorghum derivatives. Also, various forms for maize contained more stigmasterol than forms for grain sorghum. The percentage of campesterol and stigmasterol related to the other compounds in the extracts were larger for grain sorghum derivatives than for maize derivatives.

CONCLUSIONS

Policosanols and plant sterols can be recovered from grain sorghum and its DDGS using reflux or soxtec methods of extraction. Time of extraction seems not to have an influence in the amount of total plant sterols that can be recovered from DDGS sorghum by reflux method.

A better understanding of the extraction of lipids and the extraction methods was obtained after the comparison study. Soxtec method gave larger lipid yields than reflux method. Lipid yields from maize sources were in most of the cases higher than those from grain sorghum. However, lipid extracts from maize are different in nature those from grain sorghum. Recoveries of lipids from DDGS were the highest among all the forms of the grains used.

Reflux and soxtec methods had a different influence on the recovery of sterols from the different sources of grain sorghum and maize. In contrast to the lipid yields obtained by the two methods, for all the grain sources total plant sterols yields were lower for the soxtec method than for the reflux method. For most of the grains sitosterol was the predominant plant sterol.

Results obtained so far indicate that grain sorghum especially sorghum DDGS are a potential source of plant sterols and policosanols. Much research remains to be completed in order to reach process commercialization of grain sorghum lipid extracts.

ACKNOWLEDGEMENT

A contribution of the University of Nebraska Agricultural Research Division, supported in part by funds provided through the Hatch Act, USDA. Additional support was provided by the USDA-CSREES National Research Initiative Competitive Grants Program (grant number: 2004-35503-14824) and a USDA-ARS Specific Cooperative Agreement (project number: 5430-44000-017-02S). Mention of a trade name, proprietary products, or company name is for presentation clarity and does not imply endorsement by the authors or the University of Nebraska. The authors wish to thank Katrina Christiansen and Richard Zbasnik for their excellent technical assistance.

References

- Anonymous. 1995. Sorghum and millets in human nutrition. Rome Italy:FAO Food and Nutrition Series. p185.
- Awika JM, Rooney LW. 2004. Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health. *Phytochem.* 65(9): 1199-1221
- Carr TP, Weller CL, Schlegel VL, Cuppett SL, Guderian DM, Johnson, KR. 2005. Grain sorghum lipid extract reduces cholesterol absorption and plasma non-HDL cholesterol concentration in hamsters. *J. of Nutr.* 135(9):2236-2240
- Christiansen K. 2006. Understanding the parameters affecting lipid extraction from grain sorghum. M.S. Thesis. University of Nebraska-Lincoln
- Gouni-Berthold I, Berthold HK. 2002. Policosanol: clinical pharmacology and therapeutic significance of a new lipid-lowering agent. *Am Heart J.* 143(2):356-365
- Hwang KT, Cuppett SL, Weller CL, Hanna MA, Shoemaker RK. 2002a. Aldehydes in grain sorghum wax. *JAOCS* 79(6):529-533
- Hwang KT, Cuppett SL, Weller CL, Hanna MA. 2002b. Properties, composition and analysis of grain sorghum wax. *JAOCS* 79(6): 521-527
- Hwang KT, Weller CL, Cuppett SL, Hanna MA. 2004. Policosanol contents and composition of grain sorghum kernels and dried distillers grains. *Cereal Chem.* 81(3):345-349
- Kulp K, Ponte JG. 2000. *Handbook of Cereal Science and Technology.* New York:Marcel Dekker. 790 p.
- Membrado L, Vela J, Ferrando AC, Cebolla VL. 1996. Improved extraction procedures for coal products based on the soxtec apparatus. *Energy Fuels* 10(4):1005-1011
- Nguyen TT. 1999. The cholesterol-lowering action of plant stanol esters. *J Nutr.* 129(12): 2109-2112
- Noble RD, Agrawal R. 2005. Separations research needs for the 21st century. *Ind. Eng. Chem. Res.* 44(9):2887-2892
- Ostlund RE, Racette SB, Okeke A, Stenson, WF. 2002. Phytosterols that are naturally present in commercial corn oil significantly reduce cholesterol absorption in humans. *Am J Clin Nutr.* 75(6):1000-1004
- Ostlund RE. 2002. Phytosterols in human nutrition. *Ann. Rev. Nutr.* 22(1):533-549
- Pepping J. 2003. Policosanol. *Am J Health-Syst Pharm.* 60(11):1112-1114
- Phillips KM, Ruggio DM, Toivo JI, Swank MA, Simpkins AH. 2002. Free and esterified sterol composition of edible oils and fats. *J Food Comp Anal.* 15(2):123-142
- Singh V, Moreau RA, Hicks KB. 2003. Yield and phytosterol composition of oil extracted from grain sorghum and its wet-milled fractions. *Cereal Chem.* 80(2):126-129
- Varady KA, Wang Y, Jones PJH. 2003. Role of policosanols in the prevention and treatment of cardiovascular disease. *Nutr Rev.* 61(11):376-383
- Wang L, Weller CL. 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Sci Tech.* 17(6):300-312
- Wang L, Weller CL, Hwang KT. 2005. Extraction of lipids from grain sorghum DDG. *Trans ASAE* 48(5):1883-1888

GRAPE PHENOLICS IMPREGNATION BY OSMOTIC DEHYDRATION: INFLUENCE OF OSMOTIC AGENT ON MASS TRANSFER AND PRODUCT CHARACTERISTICS

Aleksandra Rózek, Carme Güell, Francisco López, Montserrat Ferrando

Unitat d'Enologia del CeRTA (Generalitat de Catalunya), Departament d'Enginyeria Química, Universitat Rovira i Virgili, Avenida Països Catalans 26, 43007 Tarragona, Spain
montse.ferrando@urv.cat

SUMMARY

Osmotic dehydration (OD) was assessed as an operation for supplementing a solid foodstuff (agar-agar gel was used as a model food) with grape phenolics from a commercial grape seed extract to increase antioxidant properties. The impact of different osmoactive agents (sucrose, salt, and glycerol) on impregnation with phenolics was investigated. The model food was processed for up to 8 hours, and the osmotic pressure was adjusted to obtain similar water activity for each osmotic solution (0.935 ± 0.010). Total phenolics content, solute uptake and Trolox equivalent antioxidant activity (TEAC) was determined in the osmo-dehydrated food. The effective diffusion coefficients of moisture, soluble solids and total phenolics during OD of a model food with each type of osmotic solution were evaluated. Under the conditions that maximized phenolic infusion, the total phenolic content of the gel was closed to the values in some rich-in-phenolic fruits and vegetables, whereas TEAC was 4 times that of fresh fruit with the highest antioxidant activity.

INTRODUCTION

In the last few years in a period of exciting food engineering research activities the dehydration process received special interest with regard to its principles, potentials and industrial applications. Osmotic dehydration (OD) operation is an interesting alternative as food preservation method due to several reasons. It is a no-thermal treatment and its aim is the partial water removal from the food material causing the corresponding water activity decrease (Zhao & Xie, 2004). Osmotic dehydration commonly takes place by immersing the product in an aqueous solution with a greater osmotic pressure (i.e., with a relatively high concentration of dissolved substances, mainly sugar and salts). This creates two major simultaneous countercurrent mass transfer fluxes, namely, water outflow from the product to the surrounding solution and solute infusion into the product (Spiess, & Behnlian, 1998). As a result of these two main flows, OD has a double effect on solid foodstuffs: it partially removes the water from the food and impregnates the food with the solutes of the osmotic solution. The current of the interest in osmotic treatments arises primarily improvement and quality factors. Quality improvement is related not only to the water removal with the minimal thermal stress but also to the impregnated solutes and the modification of the structure (Torreggiani & Bertolo, 2001). With the correct choice of solutes, and a controlled and equilibrated ratio water removal and impregnation, it is possible to enhance natural flavour and colour retention in fruit products. In the last years the use of multicomponent solutions has gained more interest. For example the use of ternary sucrose-salt aqueous solutions is very widespread for the treatment of meat and fish (Collignan et al., 2001). The interest in the application of these ternary solutions relies in the accelerating effect observed in both the water removal and the solute gain (Collignan & Raoult-Wack, 1992). Glycerol is a common food additive to improve the texture of foods (plasticizer) (Clubbs, Vittadini, Shellhammer, & Vodovotz, 2005); Pouplin, Redl & Gontard, 1999) and also shows advantages as microbiological protectant (Qiu & Bending, 2002).

As it was investigated the OD gives the opportunity to impregnate the natural antioxidants into model food structure during OD process (Rózek et. al, 2007). Impregnation with selected solutes as well as with phenolics compounds is an

important step in food preservation. In the past several years, a large number of scientific reports have described the properties of phenolic compounds from numerous natural products. In particular, natural phenols have been reported to have excellent properties as food preservatives as well as to play an important role in protection against a number of pathological disturbances, such as arteriosclerosis, brain dysfunction and cancer. Special interest had been paid to grape polyphenols (Yilmaz et al., 2004).

The objective of this work is to obtain experimental kinetics of osmotic dehydration of agar model food. The effect of the osmotic active solute on impregnation with phenolics was studied using binary aqueous solutions of sucrose, salt and glycerol and ternary aqueous solutions of sucrose-salt, all with the same phenolics fractions and with similar osmotic strength.

MATERIALS AND METHODS

Osmotic Solutions and model food. The commercial grape seed extract Vitolol® was supplied by Berkem (Gardonne, France). Commercial food grade sucrose was used, while sodium chloride from J.T.Baker, Germany and glycerol from Sigma-Aldrich were utilized as osmotic active solutes for binary and ternary aqueous solutions. As a model food an agar agar gel was prepared with 4% (w/w) agar-agar (Scharlau, Spain), 9.6% (w/w) sucrose, and distilled water.

Osmotic Dehydration. The experimental setup consisted of two parts: a basket in which the gel samples were placed, and a vessel that was filled with the osmotic solution. About 50 g of agar agar gel cubes (1 cm^3) was weighed and placed in the OE basket. The prepared basket was submerged in 1L of osmotic solution. The model food was processed for 0.5, 1, 2, 4 and 8 h. The osmotic pressure was adjusted to obtain similar water activity (0.935 ± 0.010) except the control solution, which contained only phenolics fraction. In order to check the effect of osmotic solute on impregnation with polyphenols, five osmotic were prepared. The composition of each solution is presented in the Table 1.

Table 1. Composition of osmotic solutions.

OD Solution	Molality			Mass fraction
	Sucrose	Salt	Glycerol	Phenolics
Sucrose	2.92	-	-	0.0063
Salt	-	1.9	-	0.0063
Sucrose-Salt	1.46	0.95	-	0.0063
Glycerol	-	-	4.65	0.0063
Control	-	-	-	0.0063

A 20:1 solution/gel ratio (w/w) prevented changes in the solution concentration. During the experiment, temperature was maintained at $25\pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ and the setup was covered to minimize the effect of light. After osmotic treatment, the gel cubes were removed from the solution, gently blotted with tissue paper, and weighed. Each experiment was carried out in triplicate. All experiments were run under atmospheric pressure.

Determination of Moisture and Soluble Solids Content. The moisture content of fresh and osmo-dehydrated food was determined with the 934.06 AOAC gravimetric method. The

concentration of soluble solids in osmo-dehydrated food was determined by Mohr's method (for sodium chloride) and GAB method for sucrose concentration.

Extraction of Phenolic Compounds and soluble solids from the Osmo-dehydrated Food. To determine the extent of phenolic impregnation in the gel after osmotic dehydration, a sequential extraction was carried out. A sample of crushed gel (5 g) was extracted sequentially with 30 mL of methanol/water (50:50, v/v) and 30 mL of acetone/water (50:50, v/v) solutions, for 1 h in each extraction solvent and at room temperature. Each extraction was carried out in duplicate. In order to determine the sucrose and sodium chloride impregnated into a model food the extraction was carried out. A sample of crashed gel (2.5g) was extracted with 50 mL of water. Each extraction was carried out in duplicate.

Determination of Total Phenolic Content. The total phenolic content of red grape must and gel extracts was determined with Folin-Ciocalteu's method (Singleton & Rossi, 1965). The results were expressed as gallic acid equivalents (mg of GAE/kg on wet basis).

Trolox Equivalent Antioxidant Activity Assay (TEAC). The 2,2-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) method is a decolorization assay applicable to both lipophilic and hydrophilic antioxidants (Re et al., 1999). The method is based on the ability of antioxidant molecules to quench the long-lived ABTS+, a blue-green chromophore with characteristic absorption at 734 nm, compared with 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox), a water-soluble vitamin E analogue. The results were expressed as the Trolox equivalent in millimoles per kilogram on wet basis.

Calculation procedures. The osmotic dehydration kinetics of the model food was evaluated by calculating water loss (ΔM^w), moles soluble solid gain (Δm^{ss}), and phenolic gain (ΔM^{TPH}). These parameters were calculated as

$$\Delta M^w = \frac{M_t \cdot x_t^w - M_0 \cdot x_0^w}{M_0} \quad (1)$$

$$\Delta M^{ss} = \frac{M_t \cdot m_t^{ss} - M_0 \cdot m_0^{ss}}{M_0} \quad (2)$$

$$\Delta M^{TPH} = \frac{M_t \cdot x_t^{TPH} - M_0 \cdot x_0^{TPH}}{M_0} \quad (3)$$

where M, x and m are the mass of the gel, the mass fraction of each component in the gel and moles fraction of soluble solids, respectively. The subindices 0 and t indicate initial conditions and conditions at time t of OD, and superindices w, ss, and TPH are water, soluble solids, and total phenolics, respectively.

Determination of effective diffusion coefficients of water and osmotic solutes. The effective diffusion coefficients for water and osmotic solutes were calculated to evaluate OD. The analytical solution to Fick's second law for cubical configuration was used to model the mass transfer of water and osmotic solutes during OD (Crank, 1975), assuming that model food cubes behave like isotropic structures. The initial and boundary conditions assumed that the cube's initial content of water and soluble solids was uniform, that the food solid was symmetrical with regard to the mass transfer direction, and that the system was in thermodynamic equilibrium. Mass transfer was also assumed to occur between the food liquid phase (i.e. food containing water and soluble components) and the osmotic solution. On this basis, the equilibrium criterion considered was that the food liquid phase and the osmotic solution were compositionally equal (Barat, 1998). With all these assumptions:

$$M_t = \frac{(z_t^w - z_\infty^w)}{(z_0^w - z_\infty^w)} = \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp \left[- (2n+1)^2 \frac{3\pi^2 D_e z_t}{4a^2} \right] \quad (4)$$

$$S_t = \frac{(z_t^s - z_\infty^s)}{(z_0^s - z_\infty^s)} = \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp \left[- (2n+1)^2 \frac{3\pi^2 D_e S_t}{4a^2} \right] \quad (5)$$

$$TPH_t = \frac{(z_t^{TPH} - z_\infty^{TPH})}{(z_0^{TPH} - z_\infty^{TPH})} = \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp \left[- (2n+1)^2 \frac{3\pi^2 D_e TPH_t}{4a^2} \right] \quad (6)$$

where M_t, S_t , and TPH_t , are the moisture, soluble solids and the total phenolic; z is the mass fraction in the food liquid phase; the subscripts 0, ∞ , and t represent initial concentrations, at equilibrium, and at any time; the superscripts w, ss and TPH represent water, soluble solids, and total phenolics; D_e is the effective diffusion coefficient, and a is the half thickness of the cube.

RESULTS AND DISCUSSION

Effect of the operating conditions on water loss and soluble solid and phenolics gain. Figure 1 plots the effect of the osmoactive solute on water loss and mole soluble solid gain and phenolic gain during OD. As it is expected the highest water loss was 27% (with molality of 2.92 of soluble in the sucrose solution) followed by 14% and 6% (with sucrose-salt solution and glycerol solution, respectively) for 8 h of OD. In the case of the treatment in a binary salt aqueous solution maximal water removal is observed with 0.5 hour treatment. After this time no more water is removed from model food and the gel starts to regain water. It can be assumed that at this point the liquid phase of the gel begins to be replaced by osmotic solution. For the treatment in solutions with salt content much shorter treatment times are recommended when aiming at a dewatering effect. However, when using different solutes, the number of moles gained instead of the gained weight should be compared. Considering this kind of comparison it can be stated that the sodium chloride uptake is most pronounced, followed by glycerol and sucrose. This can explain the high phenolics impregnation with molality of 1.9 of sodium chloride in osmotic solution, followed by glycerol and sucrose-salt in the osmotic solution. Osmotic active solutes with a low reflection coefficient as glycerol ($\sigma=0.8$) or NaCl ($\sigma=0.5-0.6$), are able to penetrate the model food structure. Osmotic solutions of this kind of solutes are adequate when the main goal of the treatment is to achieve a high impregnation of the food with a low dewatering. Figure 2 shows the total phenolic content determined according to the Folin-Ciocalteu's method and the corresponding antioxidant activity by TEAC method. The total phenolic content in the osmo-dehydrated food increased with processing time. OD for 8 h with molality of 1.9 of sodium chloride in the osmotic solution led to the highest total phenolic content in the osmo-dehydrated food (up to 10439 ± 45 mg of GAE/kg), followed by 7982 ± 226 mg of GAE/kg obtained after 8 h of OD with 0.63% mass fraction of phenolics in aqueous solution (control solution). In case of the phenolics gain small differences are observed for glycerol, sucrose-salt and sugar osmotic solution. Gains of 5124 ± 216 , 5105 ± 153 and 4627 ± 58 mg GAE/kg were obtained after 8 h of OD, respectively. The impregnation of total phenolics during OD with an osmotic solution with 2.92 molality of sucrose might be limited either by the concentrated surface layer of soluble solids or by the high viscosity of the osmotic solution, which can increase the further penetration of other minor compounds in the osmotic solution (phenolic compounds in this case) (Raoult -Wack, 1991). Comparing these phenolics contents with those reported in the literature for commonly consumed fresh fruits and vegetables (Chun et al., 2005; Balasundran et al., 2006; Cieslik et al, 2006), it was verified that the osmo-dehydrated model food obtained in these OD conditions had a similar or higher content of total phenolics than the richest fruits and vegetables. Much shorter processing times, as short as 0.5 or 1 hour of OD, would be long enough to provide osmo-dehydrated food with a total phenolic content

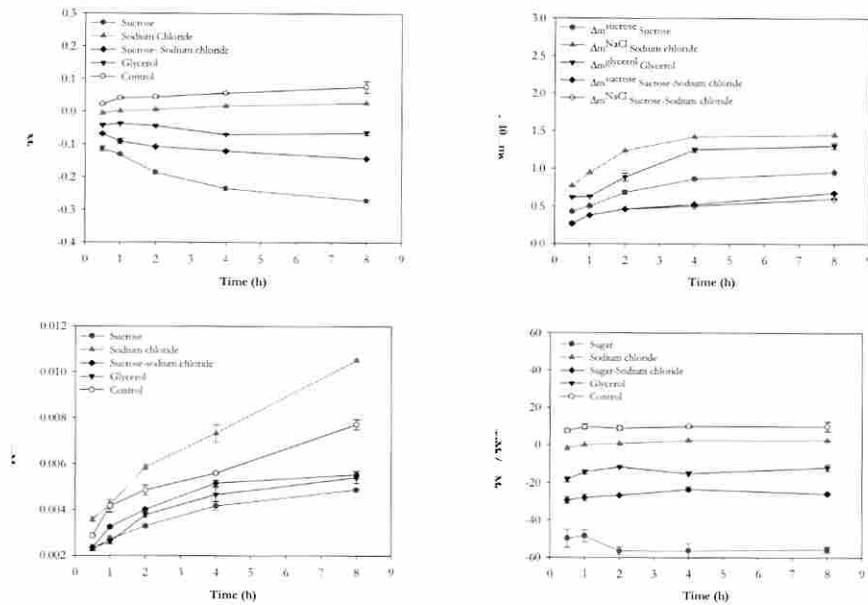


Figure 1. Mass change of water (ΔM^w), gain in soluble solids (ΔM^{SS}) and total phenolics (ΔM^{TPH}), and ratio of water mass changes to gain in total phenolics ($\Delta M^w/\Delta M^{TPH}$) during OD with different osmoactive solutes in osmotic solution (mean \pm standard deviation of experiments performed in duplicate).

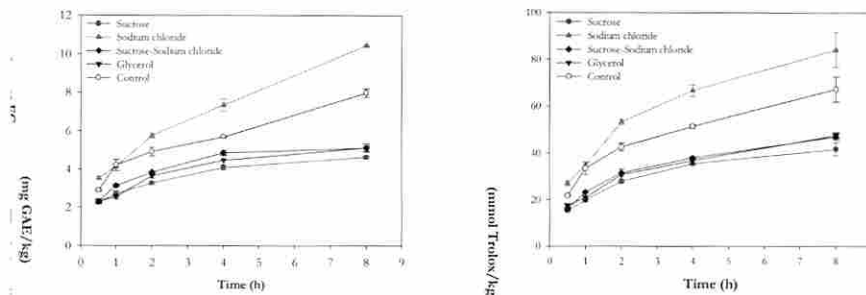


Figure 2. Total phenolics content, determined by Folin-Ciocalteu's method and antioxidant activity of osmo-dehydrated food measured by TEAC method during OD with commercial grape seed extract.

Table 2. Effective diffusion coefficients of moisture, osmoactive solutes and total phenolics.

OD Solution	$D_e \times 10^{10} \text{ [m}^2/\text{s]}$				
	Water	Sucrose	Salt	Glycerol	Total phenolics
Sucrose	2.91 ± 0.14	2.88 ± 0.14	-	-	2.26 ± 0.17
Salt	-	-	4.68 ± 0.21	-	10.1 ± 0.66
Sucrose-Salt	4.70 ± 0.15	4.61 ± 0.15	5.69 ± 0.15	-	3.57 ± 0.16
Glycerol	1.25 ± 0.19	-	-	0.52 ± 0.19	3.14 ± 0.13
Control	-	-	-	-	7.10 ± 0.21

close to that of the richest fruits and vegetables. Mass transfer is usually assumed to occur between the food liquid phase (i.e., food containing water and soluble components) and the osmotic solution. On this basis, the equilibrium criterion considered that the food liquid phase and the osmotic solution are compositionally equal.

After 4 hours of OD with a salt osmotic solution; and 8 h of OD with control solution (0.63% mass fraction of phenolics in the osmotic solution), the phenolic content in the osmo-dehydrated food was above the total phenolic content of the osmotic solutions, which shows that equilibrium had been reached from the point of view of phenolic mass transfer. According to these results, OD proved to be an efficient operation for supplementing a solid foodstuff with grape phenolics when the commercial grape seed extract was used. In vitro antioxidant capacity assay was chosen to measure the free radical scavenging activity in the osmo-dehydrated food

during OD. Figure shows the increase in TEAC during OD with each type of solute in the osmotic solution. As observed with total phenolics, the antioxidant activity was highest binary salt osmotic solution. In these conditions and after 8 hours of OD, TEAC value was 84.21 mmol of Trolox/kg. Comparing these results with the total gain in phenolics, it was observed that under the same operating conditions, the total phenolic content was at the same level as the fruit richest in polyphenols (black- and blueberries), whereas antioxidant activity, in terms of TEAC, was 4 times the antioxidant capacity of the most antioxidant fresh fruits. Regression analysis showed that total phenolic content, determined by Folin-Ciocalteu's method, was significantly correlated with TEAC ($r^2=0.987$, $P<0.001$).

Mass transfer during OD: Effect of different osmo-active solutes. To characterize and compare mass transfer during OD

at different operating conditions, the moisture, solute's and total phenolics in the model food were calculated as dimensionless values related to the initial and equilibrium conditions. Table 1 summarizes these effective diffusion coefficients for all the operating conditions studied. Values for moisture D_e ranged from $4.70 \cdot 10^{-10}$, $2.91 \cdot 10^{-10}$ and $1.25 \cdot 10^{-10}$ for sucrose-salt, sucrose and glycerol solution, respectively. The moisture D_e for sodium chloride solution was not calculated, because the dewatering effect is fast and after 0.5 hour treatment no more water is removed from model food and the gel starts to regain water. The same behaviour was observed for moisture rate during OD with control solution. The data for moisture does not fit the proposed model. The values of diffusion coefficient for sucrose, salt and glycerol are presented in the Table 1. The D_e values of total phenolics for all the operating conditions tested were significantly influenced by the type of solute in the osmotic solution. D_e ranged from $2.26 \cdot 10^{-10}$ to $10.1 \cdot 10^{-10}$ for transfer of total phenolics of OD with sucrose and salt solution, respectively. This behaviour can be explained comparing the results of moles impregnation for each solute. The type of osmoactive solute had a significant impact on the infusion of total phenolics

CONCLUSIONS

It has been shown that the composition of the solution plays a decisive role in terms of the modifications achieved in the treated material. An increase of molecular weight of the osmotic active component of the solution enhanced the dewatering effectivity. Under different osmotic dehydration conditions (mainly composition of the solution) the impregnation effect had been achieved. It was proved that total polyphenols content impregnated into model food strongly affect on antioxidant activity. Presented data makes the commercial grape seed extract an ideal source of natural, high value-added polyphenolics phytochemicals and also gives the opportunity to impregnate the natural antioxidants into fruit structure during osmotic dehydration process.

REFERENCES

- A.O.A.C. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C., 1998.
- 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.
- Barat, J.M.; Fito, P.; Chiralt, A. Equilibrium in cellular food-osmotic solution systems as related to structure. *Journal of Food Science* 1998, 63, (5): 836-840.
- Cieřlik, E.; Gręda, A.; Adamus, W. Contents of polyphenols in fruit and vegetables. *Food Chemistry*, 2006, 94 (1) 135-142.
- Chun, O.K.; Kim, D.O.; Smith, N.; Schroeder, D.; Han, J.T.; Lee, C.Y. Daily consumption of phenolics and total antioxidant capacity from fruit and vegetables in the American diet. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2005, 85 (10) 1715-1724.
- Clubbs, E.A., Vittadini, E., Shellhammer, T.H., & Vodovotz, Y. (2005). Changes in the mechanical properties of corn tortillas due to the addition of glycerol and salt and selective high pressure treatments. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6, 304-309.
- Collignan, A.; Raoult-Wack, A.L. (1992) Dewatering through immersion in sugar/salt concentrated solutions at low temperature. In: *Drying '92*. Mujumdar AS (ed.) Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam: 1887-1896.
- Collignan, A.; Bohuon, P.; Deumier, F.; Poligné, I. (2001) Osmotic treatment of fish and meat products. *Journal of Food Engineering*, 49:153.
- Crank, J. The mathematics of diffusion. Second Edition. Oxford: Oxford University Press 1975.
- Pouplin, M., Redl, A., & Gontard, N. (1999). Glass transition of wheat gluten plasticized with water, glycerol, or sorbitol. *Journal of Food Engineering*, 49, 163-173.
- Qiu, L., Bending, R.A. (2002). Characteristics of protectant synthesis of invertebrate juveniles of *Steinernema carpocapsae* and importance of glycerol as a protectant for survival of the nematodes during osmotic dehydration. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 131, 757-765.
- Re, R.; Pellegrini, N.; Protopopescu, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 1999, 26, (9-10) 1231-1237.
- Rózek A., Achaerandio I., Almajano M.P., Güell C., López F., Ferrando M. (2007). Solid foodstuff supplemented with phenolics from grape: Antioxidant properties and correlation with phenolics profiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 5147-5155.
- Raoult-Wack, A.L.; Petitdemange, F.; Giroux, F.; Guilbert, S.; Rios, G.; Lebert, A. Simultaneous water and solute transport in shrinking media - Part 2 - A compartmental model for dewatering and impregnation soaking processes. *Drying Technology* 1991, 9: 613-630.
- Singleton, V.L.; Rossi, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid agents. *American Journal of Viticulture & Enology*, 1965, 16: 144-158
- Spiess, W.E.L.; Behnlian, D. (1998) Osmotic treatments in food processing. Current stage and future needs. In: *Drying '98*; C.B. Akritidis, D. Marinos-Kouris, G.D. Saravacos (Ed.) Ziti Editions, Thessaloniki, 23:989.
- Torreggiani, D., Bertolo, G. (2001) Osmotic pre-treatments in fruit processing: chemical, physical and structural effects. *Journal of Food Engineering*, 49: 247.
- Yilmaz Y., Toledo R.T. (2004). Health aspects of functional grape seed constituents. *Trends in Food Science & Technology* 15, 422-433.
- Zhao, Y., & Xie J. (2004) Practical applications of vacuum impregnation in fruit and vegetable processing. *Trends in Food Science & Technology*, 15, 434-451.

PRODUCTION OF DRIED TOMATOES USING THE OSMO-CONVECTIVE DRYING: SENSORY ANALYSIS

Magalhães, Margarida Maria dos Anjos; Silva, Joseaide; Souza, Josilma Silva de; Medeiros, Maria de Fátima Dantas

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE TECNOLOGIA – DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
Campus Universitário - CEP: 59072-970 E-mail: margarida@eq.ufrn.br
NATAL – RN - BRASIL

KEYWORDS: processing, dried tomato, osmotic dehydration, preserving, drying

ABSTRACT

The objective of this work was the drying of tomatoes using the osmo-convective process in order to compare with commercial product. Osmotic dehydration was carried out at 60°C in an osmotic solution with 5% of sodium chloride and 35% of sucrose, at immersion times of 2 and 3 hours. The parameters calculated were: water loss, solid gain, weight reduction and P_r . Based on the highest P_r value the immersion time of 2 hours was considered the best time for obtaining a product with the lowest solid incorporation. Since osmotic dehydration is not sufficient to lower the water activity to values that allow the dried tomato to maintain its stability the need was felt to carry out a supplementary drying of the tomatoes, in an oven at 70°C using 2 and 3 hour drying times. During the 2 hour drying time a decrease in A_w was observed, although the studied value was still high. During the 3 hours drying process a low A_w was achieved thus allowing a good stability to the dried tomatoes. As a result it was decided that the most appropriated condition for the preserving of the tomatoes was the use of osmotic dehydration for two (2) hours at 60°C followed by a supplementary three (3) hours drying process in an oven at 70°C. Using the sensory analysis method the dried tomatoes processed under these conditions were compared to the commercial product. In all attributes analyzed (appearance, odor, color, taste, texture) no significant difference at the $P>0,05$ level was observed. These results indicated that the osmo-convective drying could be used as an alternative to the traditional process mainly because this drying time decreases to 5 hours, which represents a saving in energy/power cost, with the benefit of obtaining a product similar in quality to the commercial one.

INTRODUCTION

Drying of vegetables has an important role in the field of food dehydration. This practice dates back to many centuries ago, when the food were dried in the sun with the aim to preserve the surplus from the crops of a certain season to be used during the periods of famine or in the lack of that type of food due to a poor crop. One of these vegetables, specifically the tomato, was selected to be the object of our study, since its dehydration has been a challenge because of the high moisture content (93 – 95%).

A few decades ago dried tomato used to be a very costly product in Brazil, since most of the marketed product was imported from other countries. Its use as part of the Brazilian meals was almost restricted to the Southeastern city of São Paulo. However, in the last few years the use of this product in the food industry was disseminated throughout the country. It is intensively cultivated in most regions of Brazil, consequently there is always excess of crop at the end of the season. In the Northeast of Brazil most of it is wasted, so the dehydration of the tomato could be a good alternative to help in the development of the agro-industry of this region. It could be processed in small-sized industrial units, using the most appropriated method to obtain a good quality and tasteful new product which would provide the consumer with different options, available throughout the year, since in the dried state the tomato runs a very low risk of perishing. Modern life style has forced the population to look for ready made food and we believe that the dried tomato meets this demand.

The tomato drying traditional process consists of the following steps: selection, washing, axial or radial slicing, salting, drying, bottling (with seasoning addition - oil, olive oil, herbs) and pasteurization. The drying process is the one which takes more time, about 14 to 16 hours.

As an alternative to the above mentioned process, the osmotic dehydration, followed by convective drying could be used. The first one consists of immersion of the fruit or vegetable in a solution containing sugar or/and salt, which causes two transformations on the vegetable: a reduction in the moisture content and incorporation of the solute into the product. This combination could result in a weight reduction.

This work also consists of a comparative study between the commercial product (dried tomatoes), processed according to the traditional method, and the same product submitted to the osmo-convective drying process. In the second example one of the advantages would be the shortening of the processing time and consequently a reduction in the energy cost. In the osmotic dehydration, under certain conditions, a reduction in the sliced tomato moisture of about 40 to 52% at only four hours immersion time in the osmotic solution was observed (Souza, J.S. 2002).

The osmotic dehydration also provides a higher retention of some of the tomato's nutrients, such as lycopene and vitamin C. This method also minimize the damages of the color, texture and taste of the tomato caused by the long heating time which is used in the traditional drying processes (Camargo et al., 2004). On the other hand, the incorporation to the fruit of other components such as salt, sucrose, sodium metasilphite, can enhance the preservation of the dried tomato, mainly by reducing the water activity.

MATERIALS AND METHODS

Materials

The raw material used in this study was the tomato, cv *longa vida*, selected according to the degree of ripening (visually assessed), with a proportion of soluble solids between 4 and 6° Brix.

Processing

The selected tomatoes were washed, sliced in the axial and/or radial direction and blanched in water steam for 5 minutes.

Osmotic dehydration was carried out at 60° C in solution with 5% sodium chloride and 35% sucrose (Souza, J.S., 2002). The process was carried out in a water bath with continuous stirring of the suspension at the ratio of tomatoes to the solution 1:4 w/w. After dehydration times of 2 and 3 hours samples were drained and analysed.

After the osmotic dehydration, the sliced tomatoes were put in perforated plates and drying at 70°C in stove with air flow for 2 and 3 hours.

The dried tomatoes were bottled in glass jars, with the addition of vegetable oil, olive oil and oregano, then pasteurized for 20 minutes and stored for approximately one month, before the sensory analysis.

Analyses for pH, acidity, soluble solids content, moisture content, and water activity were done in samples of tomatoes after blanching, osmotic dehydration and the final drying, according to the Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985). All the analysis was performed in duplicate.

The following parameters were calculated: water loss (WL), soluble solid gain (SG), weight reduction (WR) according to

Levi et al. (1983) and performance rate (P_r) according Kim et al (2007), using the equations below,

$$WL(%) = \frac{M_0 X_0 - M_f X_f}{M_0} \quad (1)$$

$$SG(%) = \frac{M_0 Y_0 - M_f Y_f}{M_0} \quad (2)$$

$$WR(%) = \frac{M_0 - M_f}{M_0} \quad (3)$$

$$P_r = \frac{WL}{SG} \quad (4)$$

Where:

M_0 = initial weight; M_f = final weight
 X_0 = initial water content;; X_f = final water content;
 Y_f = final soluble solids; Y_0 initial soluble solids.

Sensory evaluation

Sensory evaluation of dried tomatoes preserves was carried out using nine-point Hedonic scale by a semi-trained panel consisting of 14 judges. The attributes analyzed were appearance, odor, color, taste and texture (Teixeira *et al.*, 1987). Acceptability Index (AI) was also calculated considering the highest score as 100%, and the average score, in percentage, as the AI. If the product reaches a percentage equal to or higher than 70%, it means that the panelists have approved it. The dried tomatoes drying of osmo-convective process was compared with the commercial product using the Hypothesis Test (Costa Neto, 1977).

RESULTS

The results of pH, acidity, soluble solids content, moisture content, and water activity related to the 4 experiments in which there was a variation in the osmotic dehydration times (2 and 3 hours), and final drying (2 and 3 hours) are shown in Table 1.

The results of water loss (WL), soluble solid gain (SG), weight reduction (WR) and performance rate (Pr) concerning the 4 experiments in which there was a variation in the osmotic dehydration times (2 and 3 hours) and the final drying (2 and 3 hours) are shown in Table 2

Table 1 – Results of pH, acidity, soluble solids content, moisture content and water activity in the four experiments carried out, in which there was a variation in the osmotic dehydration times (2 and 3 hours) and final drying (2 and 3 hours).

Parameters	B*	OD** 2 h	Drying in stove		OD** 3 h	Drying in stove	
			2 h	3 h		2 h	3 h
pH	4.54	4.19	4.12	4.16	4.24	4.11	4.13
Acidity (mg ac. citric/ 100 g)	0.33	0.29	0.77	0.79	0.24	0.61	0.77
Soluble solids (°Brix)	6.0	21.2	57.8	63.2	24.1	54.3	75.3
Moisture content (w.b.) %	94.1	78.8	54.3	14.1	76.1	44.3	12.7
Water activity (A_w)	0.990	0.965	0.819	0.633	0.949	0.796	0.590

* Blanching

** Osmotic dehydration

Table 2 – Results of water loss (WL), soluble solid gain (SG), weight reduction (WR) and performance rate (Pr) of the 4 experiments in which there was a variation in the osmotic dehydration (2 and 3 hours) and final drying (2 and 3 hours).

Parameters	OD** 2 h	Drying in stove		OD** 3 h	Drying in stove	
		2 h	3 h		2 h	3 h
Water loss (WL)	40.9	58.3	75.2	41.2	55.9	77.7
Solid gain (SG)	8.34	0.52	3.95	10.91	0.23	0.44
Weight reduction (WR)	32.5	60.1	62.4	29.9	55.1	63.4
Performance rate (P_r)	4.9	---	---	3.9	---	---

** Osmotic dehydration

The results of pH, acidity, soluble solid contents, moisture (Table 1) show coherence with the ones found in the consulted literature (Gould, 1974; Igarashi, 1999).

In Table 2 it could be observed that in the osmotic dehydration the difference in the water loss values was very small at both immersion times. However, in the 3 hour processing solid gain was higher. Since in the case of the tomato processing a higher incorporation of solids is harmful to the quality of the final

product, the immersion time selected for the process was the one which showed the highest Pr, that is, 2 hours for the osmotic dehydration. As expected, the osmotic dehydration process in itself was not sufficient to reduce the water activity (Table 1) to values that would maintain the tomato stability during the storage time. Consequently, the tomatoes had to be submitted to a complementary drying. It could be observed from table 1 that even after drying the tomatoes for 2 hours in

the oven the A_w still showed a high value, but after 3 hours of drying at 70°C the A_w presented low values that provide a good stability to the dried tomato. Based on this, the process selected in this study was the one which uses 2 hour of osmotic dehydration at 60°C followed by 3 hours of complementary drying at 70°C which was considered more adequate to our purposes.

The dried tomato which was processed according to the selected condition was compared, through sensory analysis, to the dried tomato commercially available. There was no significant difference at the $P>0,05$ level (Figure 1) in any of the attributes analyzed (appearance, odor, color, taste, texture). In Table 3 the acceptability rates of the A product (commercial product) and B (dried tomatoes using the osmo-convective process), and it could be observed that the second one (B) showed higher values for appearance and color while in texture the values were the same for A and B products. Acceptability rates of the commercially available dried tomato were higher concerning odor and taste due to the use of a variety of seasoning in their composition.

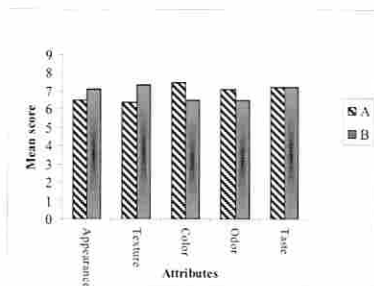


Figure 1 - Mean sensory score for commercial product and tomatoes drying of osmo-convective process.

Table 3 - Index of Acceptability of the commercial product (A) and the tomatoes drying of osmo-convective process (B)

Attributes	A	B
Appearance	71.8	79.5
Color	70.9	82.1
Odor	83.8	72.6
Taste	78.6	71.8
Texture	80.3	80.3

CONCLUSIONS

Among the studied conditions the most adequate one to our objective that is the production of a good quality dried tomato was the convective osmotic dehydration method at 60° C, for two hours, followed by a complementary drying for 3 hours, at 70°C.

The results of this work showed that the osmo-convective drying could be used as an alternative to the traditional drying process which takes about 14 to 16 hours to be completed. The first option takes only five hours for completion and consequently there is a reduction in the cost of energy. The quality of the second product is very similar to that of the commercial product, according to the sensory analysis.

REFERENCES

- Camargo, G. A.; Moretti, R.H.; Ledo, C.A.S. 2004. Quality of dried tomato pre-treated by osmotic dehydration, antioxidant application and addition of tomato concentrate. In: Proceeding of the 14th International Drying Symposium. São Paulo, Brazil, vol C, p. 2207-2215.
- Costa Neto, P. L. O. 1977. *Estatística*. São Paulo, Edgar Blucher, p. 108-115.
- Gould, W. A. 1974. *Tomato Production, Processing, and Quality Evaluation*. The Avi Publishing Company, Inc. Connecticut.
- Igarashi, L. 1999. Estudo do pré-tratamento osmótico de tomate e seu efeito na secagem, Dissertação (Mestrado). Departamento de Engenharia Química, UNICAMP, Campinas. 198 p.
- Levi, A.; Gagel, S.; Juven, B. 1983. Intermediate moisture tropical fruit products for developing countries. I. Technological data on papaya, J. Fd. Technol 18:667-685.
- Lewicki, P.P.; Lee, H.V.; Pomaranska-Lazuka, W.; Effect of pre-treatment on convective drying of tomatoes, J. Fd. Engineering 54: 141-146, 2002.
- Meloni, P.L.S. 2005. Produzindo os vegetais desidratados: tomate. In: Curso de Desidratação de Frutas e Hortaliças. Escola Agrícola de Jundiá-UFRN, Natal, p.51-54.
- Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 1985. Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos. v 1. 3ªed., São Paulo. 371p.
- Souza, J. S. de. 2002. Estudo da desidratação de tomates em pedaços com pré-tratamento osmótico. 103 p. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química - PPGEQ - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.
- Teixeira, E., Meinert, E.M., Barbeta, P.A. 1987. Análise Sensorial de Alimentos. 1ª ed., Florianópolis: Editora da UFSC. p:102-119.

EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL REFINO Y DE LA CENTRIFUGACIÓN EN COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL AÇAÍ

Ana Paula G. Gruz¹, Denise N. M. Palácio², Lourdes M.C. Cabral³, Carmen Donangelo¹, Virgínia M. Matta³

¹Instituto de Química/UFRJ – Cidade Universitária, Bl. A, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro/RJ, Brasil,

²Escola de Química/UFRJ - Cidade Universitária, Bl. E, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro/RJ, Brasil,

³Embrapa Agroindústria de Alimentos – Av. das Américas, 29501, 23020-470 Rio de Janeiro/RJ, Brasil.

Palabras-clave: *Euterpe oleracea*, procesamiento, frutas de Amazonia, capacidad antioxidante

RESUMEN

El *açaí*, la bebida púrpura oscura con textura de crema, aspecto grasoso y sabor característico, obtenida por extracción de los frutos del *açaizeiro*, es muy consumida en todas las regiones de Brasil, a pesar de tener mercados consumidores y finalidades de uso muy distintos en función de la región. La pulpa integral de *açaí* presenta elevados tenores de compuestos fenólicos totales (529 mg equivalente ác. gálico/100g), antocianinas totales (96 mg cianidina 3-glucosido/100g) y, por consecuencia, elevada capacidad antioxidante (36 μ mol Trolox/g). En este estudio, se evaluaron los procesos de refino en despulpadora y centrifugación como pré-tratamientos para una posterior clarificación del producto en membranas de microfiltración y el efecto de los mismos sobre los compuestos bioactivos del *açaí*. El refino redujo en 1% los sólidos totales, mientras que la centrifugación los disminuyó en 73%. Las pérdidas de los compuestos bioactivos fueron siempre mayores con la centrifugación que con el refino. Los valores promedio de compuestos fenólicos totales en la pulpa despulpada fueron de 488 mg ác. gálico/100g mientras que los de la centrifugada fueron de 347 mg ác. gálico/100g. En la capacidad antioxidante se verificó la misma tendencia, ocurriendo una reducción de 7% y de 38% para las pulpas despulpada y centrifugada, respectivamente.

INTRODUCCION

Euterpe oleracea Mart., el *açaizeiro*, es una palmera nativa de Amazonia con ocurrencia principal en el estuario del río Amazonas en el estado de Pará (Brasil). De esta palmera se utiliza el tallo para extracción del palmito y el fruto, el *açaí*, para obtención de la pulpa. Los frutos son bayas púrpura oscuras que se presentan en racimo y la pulpa comestible corresponde solo a 15% del peso total. Para el consumo del *açaí*, los frutos sufren un ablandamiento en agua y una extracción obteniéndose una bebida púrpura oscura con textura de crema, aspecto grasoso y sabor característico. La bebida es conocida en Brasil como vino de *açaí* o *açaí*. Es un producto muy consumido por la población local y desde la década de 1990 viene ganando nuevos mercados, incluso en el exterior, sobretodo por su valor energético (Rogez, 2000). El *açaí* aún contiene elevados tenores de antocianinas y de compuestos fenólicos.

Diversos estudios han mostrado el efecto protector contra los procesos oxidativos por parte de algunos compuestos con capacidad antioxidante presentes en frutas, vegetales y bebidas a base de estos (Pellegriani *et al.*, 2003; Moreira *et al.*, 2005) y una correlación inversa entre la ingestión de estos alimentos y la ocurrencia de enfermedades crónico-degenerativas asociadas al estrés oxidativo (Beal, 1995; Huang *et al.*, 2005; Sobobrattee, 2005).

Los compuestos fenólicos o polifenoles son los más numerosos y omnipresentes metabolitos secundarios en las plantas pudiendo presentarse como moléculas sencillas o complejas, siendo los flavonoides el subgrupo más común y más abundante (Shahidi & Nazck, 1995; Shahidi & Nazck, 2004). Pozo-Insfran (2004), en su trabajo con pulpa congelada comercial, identificó como las principales antocianinas del *açaí*, la cianidina 3-glucosido y la perlagonidina 3-glucosido.

Los fenoles, especialmente los flavonoides y los antocianos tienen gran capacidad de captar los radicales libres responsables por los daños causados por el estrés oxidativo, atribuyéndoseles

los efectos biológicos en la prevención de enfermedades. Incluyense en las propiedades biológicas de los fenoles las acciones antimicrobiana, anticancerígena, antitrombótica, antiinflamatoria, antialérgica y vasodilatadora (Soobrattee, 2005; Ishige *et al.*, 2001).

Así, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de tratamientos como la centrifugación y el refino sobre las principales características del *açaí*, con particular atención en sus compuestos bioactivos, visando su posterior utilización para obtención de jugo microfiltrado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material

La materia-prima utilizada fue la pulpa de *açaí* grueso (Brasil, 2000), adquirida directamente de una agroindustria, localizada en Belém, Brasil.

Metodología

El procedimiento experimental consistió en someter la pulpa de *açaí* a dos diferentes procesos como pré-tratamientos para la clarificación en membranas de microfiltración. El refino fue realizado en una despulpadora de cepillo y poros de 0,6 mm, de ITAMETAL, modelo Bonina 0,25 df. Para la centrifugación se utilizó una centrífuga de cestos Internacional Equipment Company, modelo SIZE 2, a una rotación de 406g. En los dos tratamientos los procesos fueron conducidos en lotes de 19 kg. Fueron sacadas muestras de las pulpas antes y después de los tratamientos para evaluación de los parámetros de pH, acidez, sólidos solubles, sólidos totales (AOAC, 2000), sólidos en suspensión (contenido de pulpa) y de los compuestos bioactivos, antocianinas totales y fenólicos totales, así como de la capacidad antioxidante.

Los compuestos fenólicos totales fueron determinados por el método colorimétrico propuesto por Singleton & Rossi (1965) y modificado por Georgé *et al.* (2005), que utiliza el reactivo de Folin-Ciocalteu, compuesto de una mezcla de ácidos fosfotúngstico y fosfomolibdico. En medio alcalino estos se reducen al oxidar los compuestos fenólicos originando óxidos que tienen coloración azul y son posibles de mensuración por lectura en espectrofotómetro a 765nm. Por medio de una curva de calibración de ácido gálico es posible cuantificar los compuestos fenólicos totales que son expresados en equivalentes de ácido gálico.

Las antocianinas totales fueron cuantificadas utilizándose el método propuesto por Fuleki & Francis (1968), que se basa en la extracción de los pigmentos y cuantificación de los mismos por espectrofotometría. La solución de extracción utilizada fue una mezcla de alcohol etílico 95% y ácido clorídrico 1,5N en la proporción 85:15. Los extractos tuvieron la absorbancia medida a 535nm y los resultados fueron calculados de acuerdo con la ecuación 1. Los valores se expresan en equivalentes de cianidina 3-glucosido.

$$\text{Antocianinas Totales} = \text{Abs} \times \text{FD} \times \text{PM} \times \epsilon_{\text{cianidina 3-gluc}} \quad (1)$$

Para la determinación de la capacidad antioxidante, las muestras fueron previamente sometidas a una dupla extracción con metanol 50% y acetona 70% seguido de una centrifugación (Rufino *et al.*, 2007). La metodología para determinación de la capacidad antioxidante se basó en la pérdida de absorbancia de la solución del radical ABTS^{•+} en presencia de compuestos con habilidad de transferir electrones para el sustrato volviéndole a

la forma no radicalar que no absorbe luz en la longitud de onda de 734 nm (Pellegrini *et al.*, 1999). Los valores fueron expresos en equivalentes de Trolox (análogo de la Vitamina E) por g de pulpa.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los rendimientos en pulpa de los pre-tratamientos utilizados fueron de 84% para el refinó y de 68% para la centrifugación. Los parámetros físico-químicos evaluados en la pulpa integral, la despulpada y la centrifugada son presentados en la Tabla 1.

Se puede observar que, de forma general, la centrifugación provocó variaciones más relevantes en esos parámetros que el refinó, exactamente por el hecho de remover una mayor cantidad de sólidos insolubles.

En el despulpamiento, 8% de los sólidos totales presentes en la pulpa integral fueron removidos. En la centrifugación esta remoción fue de 73%.

El contenido de pulpa se alteró poco con el despulpamiento, disminuyendo apenas en 15%, mientras que con la centrifugación este parámetro disminuyó 89%.

Los sólidos solubles, la acidez titulável y el pH, por su vez, prácticamente no fueron alterados con ninguno de los procesos.

Tabla 1. Características físico-químicas del *açaí* integral, despulpado y centrifugado

Parámetro / <i>Açaí</i>	Integral	Despulpado	Centrifugado
Sólidos totales (%)	14,6 ± 1,0	13,4 ± 0,4	3,9 ± 0,1
Contenido en pulpa (%)	52,3 ± 1,0	48,0 ± 0,7	5,3 ± 1,0
Sólidos solubles (°Brix)	3,0 ± 0,0	2,9 ± 0,0	2,5 ± 0,1
Acidez (g/100g) ¹	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0
pH	4,2 ± 0,0	4,2 ± 0,0	4,2 ± 0,0

¹expreso en ácido málico equivalente. Los valores representan el promedio de análisis en triplicado.

Los valores promedios de las concentraciones de compuestos bioactivos analizados de las muestras de *açaí* integral, despulpado y centrifugado están presentados en la Tabla 2. Entre los compuestos bioactivos presentes en el *açaí* se destacan los compuestos fenólicos y, en especial, los pigmentos antocianicos, motivo por lo cual estos fueron los compuestos analizados.

Tabla 2. Compuestos bioactivos del *açaí* integral, despulpado y centrifugado

Compuesto/ <i>Açaí</i>	Integral	Despulpado	Centrifugado
Fenólicos totales (mg/100g) ¹	523,8 ± 9,5	488,2 ± 23,9	347,6 ± 11,9
Antocianinas totales (mg/100g) ²	96,2 ± 1,5	82,4 ± 2,9	45,7 ± 0,7

^{1,2}expresos en ácido gálico; cianidina-3-glucosídeo equivalente. Los valores representan el promedio de análisis en triplicado.

En el *açaí* despulpado no se verificó una gran pérdida de los compuestos bioactivos, polifenoles y antocianinas, entretanto la centrifugación tuvo fuerte influencia en la disminución de esos compuestos, lo que se puede atribuir a la reducción de los sólidos insolubles.

La disminución de las antocianinas en el *açaí* despulpado fue de 14%, pero en la centrifugación se observó una reducción de 53% en los pigmentos antocianicos.

A pesar de esta reducción, el contenido de antocianinas totales de la pulpa centrifugada, 45 mg/100g, es del mismo orden de magnitud que el determinado por Rogez (2000), 44 mg/100g para la pulpa de *açaí* medio, que es la que contiene entre 11 y 14% de sólidos totales (Brasil, 2000).

Pozo-Insfran (2004), en su trabajo con pulpa congelada comercial cuantificó las antocianinas, teniendo la cianidina 3-glucosídeo un tenor de 1040 mg/L pulpa y la perlagonidina 3-glucosídeo 74,4 mg/L pulpa.

Kuskoski *et al.* (2006) evaluaron diversas pulpas comerciales y verificaron que la pulpa de *açaí* contenía 23 mg/100g de antocianinas, también expresa en equivalente de cianidina 3-glucosídeo

Tanto para el centrifugado como para el despulpado, las pérdidas fueron mucho más acentuadas en los pigmentos antocianicos que en los compuestos fenólicos totales, posiblemente por los primeros estar más adheridos a la fracción insoluble del fruto.

En el refinó, la reducción de los polifenoles fue de apenas 7% y en la centrifugación fue de 33%.

El principal polifenol identificado por Pozo-Insfran *et al.* (2004) en el *açaí* fue la epicatequina, además de los ácidos fenólicos: ferrúlico, *p*-hidroxi benzóico, gálico y protocateoquinico.

En el estudio de Kuskoski *et al.* (2006), que analizaron las pulpas comerciales de distintos frutos tropicales, fue determinado 137 mg/100g de fenólicos totales, expresados en ácido gálico.

En la Figura 1 encuentranse los resultados de la capacidad antioxidante, en equivalentes de Trolox, de las tres muestras estudiadas, el *açaí* integral, despulpado y centrifugado.

Es posible observar que la pulpa integral y la despulpada presentaron valores similares mientras que la pulpa centrifugada presentó una menor capacidad antioxidante, lo que es esperado, considerándose que los compuestos bioactivos, que confieren la capacidad antioxidante también fueron reducidos con la centrifugación.

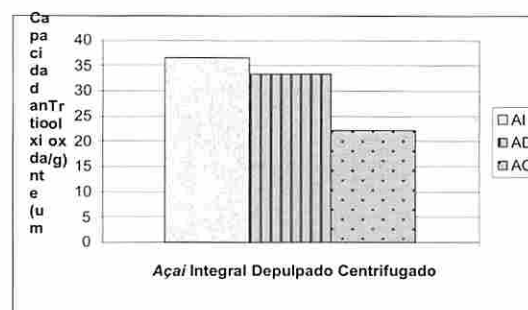


Figura 1. Capacidad antioxidante determinada pela metodología del ABTS, expresada en equivalentes de Trolox por g de pulpa. AI – *açaí* integral; AD – *açaí* despulpado; AC – *açaí* centrifugado

La capacidad antioxidante fue medida por el método que utiliza el ABTS^{•+} como radical y los resultados obtenidos fueron 36; 33, y 22 μ mol equivalente de Trolox/g de la muestra para el *açaí* integral, despulpado y centrifugado, respectivamente.

Estos valores están en acuerdo con lo esperado, pues la capacidad antioxidante está relacionada con la cantidad de compuestos fenólicos (Wong *et al.*, 2006). Las pérdidas de capacidad antioxidante de los productos despulpado y centrifugado estuvieron en el mismo rango que las pérdidas de los compuestos fenólicos totales, siendo de 7% y 38%, respectivamente. Wada *et al.* (2006) estudiaron colorantes naturales comerciales cuanto a su capacidad antioxidante y verificaron que la cianidina fue más potente que la quercetina. Otro factor que influencia la capacidad antioxidante es el tipo de compuesto bioactivo pues la estructura química puede facilitar el secuestro y limpieza de los radicales libres.

CONCLUSIONES

En las condiciones estudiadas, el proceso de despulpamiento fue el mejor para la preservación de los compuestos bioactivos del *açaí* pues las pérdidas fueron de 7% para los compuestos fenólicos totales y 14% para las antocianinas. Por otro lado, el centrifugado se mostró potencialmente el más adecuado para la obtención de jugo clarificado a través de membranas de microfiltración, una vez que la reducción de los sólidos totales con este proceso fue de 73%.

AGRADECIMIENTO

Projecto PAVUC FP6-2003-Inco-Dev2

REFERENCIAS

- Association of Official Analytical Chemists. 2000. "Official Methods of Analysis of the AOAC International". 17th Ed. Washington: AOAC.
- Beal, M. F. Aging, Energy and Oxidative Stress In Neurodegenerative Diseases. *Ann. Neurol.*, v.38, p. 357 – 366, 1995.
- Brasil, Ministério da Agricultura e Pecuária. "Instrução Normativa nº 01, de 07 de janeiro de 2000". Aprova o regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 10 jan. 2000.
- Fuleki, T.; Francis, F. J. 1968. "Quantitative Methods for Anthocyanins. I. Extraction and Determination of Total Anthocyanin in Cranberries". *Journal of Food Science*, 33, 72-77.
- Georgé, S., Brat, P., Amiot, M. J. 2005. "Rapid Determination Of Polyphenols And Vitamin C In Plant-Derived Products." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1370-1373
- Huang, D.; Ou, B.; Prior, R. L. 2005 "The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assay: Review." *J. Agric. Food Chem.*, v.53, p.1841-1856.
- Ishige, K., Schubert, D., Sagara, Y. 2001. "Flavonoids protect neuronal cells from oxidative stress by three distinct mechanisms." *Free Rad. Biol. Med.* v. 30, p.433 – 446.
- Kuskoski, E. M., Ausero, A. G. Morales, M. T. 2006. "Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas". *Ciência Rural*, v. 36, n. 4, p. 1283 – 1287.
- Moreira, D. P.; Monteiro, M. C.; Ribeiro-Alves, M.; Donangelo, C. M. e Trugo, L. C. 2005. "Contribution of Chlorogenic Acids to the Iron-Reducin Activity of Coffee Beverages." *J. Agric. Food Chem.*, v.53, p.1399-1402.
- Nogueira, O. L.; Figueirêdo, F. J. C.; Müller, A. A. 2005 (Ed.) "Açaí". Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 137 p. (Embrapa Amazônia Oriental, Sistemas de Produção, 4).
- Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M. and Rice-Evans, C. 1999 "Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay." *Free Radical Biology & Medicine*, vol. 26, n.9/10, p. 1231–1237.
- Pozo-Insfran, D.; Brenes, C. H. e Talcott, S. T. 2004 "Phytochemical Composition and Pigment Stability of Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.)." *Journal of Food Chem.*, v. 52, p. 1539-1545.
- Rogez, H. 2000 "Açaí: Preparo, Composição e Melhoramento da Conservação", Belém: EDUFPA, 288p.
- Rufino, M. S. M.; Alves, R. E.; Brito, E. S.; Morais, S. M.; Sampaio, C. G.; Pérez-Jiménez, J.; Saura-Calixto, F. D. 2007. "Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total mm Frutas pela Captura do Radical Abts". Comunicado Técnico (Embrapa Agroindústria Tropical).
- Shahidi, F. E.; Naczck, M. 1995 "Food Phenolics Sources, Chemistry, Effects.", Applications. Lancaster, Pennsylvania. Technomic Publishing Company Co., 331 p.
- Shahidi, F. E.; Nazck, M. 2004 "Extraction and Analysis of Phenolics. Food Review." *Journal of Chromatography*, v.1054, p.95-111.
- Singleton, V. L. e Rossi, J. A. 1965 "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents." *Am. J. Enol. Vitic.*, v.16, p.144-168.
- Soobrattee, M. A.; Neerghehen, V. S.; Luximon-Ramma, A.; Aruoma, O. I., Bahorun, T. 2005. "Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions." *Mutation Research*, v. 579, p. 200-213.
- Wada, M. Kido, H., Ohyama, K., Ichibangase, T., Kishikawa, N., Ohba, Y., Nakashima, M. N., Kuroda, N. and Nakashima, K. 2007 "Chemiluminescent screening of quenching effects of natural colorants against reactive oxygen species: Evaluation of grape seeds, monascus, gardenia and red radish extracts as multifunctional food additives." *Food Chemistry*, v. 100, p. 885 – 894.
- Wong, S. P.; Leong, L. P.; Koh, J. H. W. 2006 "Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants" *Food Chemistry* v.99, p. 775–783.

INFLUENCE OF MICROFILTRATION CONCENTRATION FACTOR ON AÇAÍ FUNCTIONAL CHARACTERISTICS

Denise N. M. Palacio¹, Ana Paula G. Gruz², Lourdes M. C. Cabral³, Suely P. Freitas¹, Virgínia M. Matta³ vmatta@ctaa.embrapa.br

¹Escola de Química/UF RJ - Cidade Universitária, Bl. E, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro/RJ, Brasil; ²Instituto de Química/UF RJ – Cidade Universitária, Bl. A, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro/RJ, Brasil; ³Embrapa Agroindústria de Alimentos – Av. das Américas, 29501, 23020-470 Rio de Janeiro/RJ, Brasil.

Key-words: membrane processes, Amazon fruits, bioactive compounds, *Euterpe oleracea*

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the influence of volumetric concentration factor (VCF) on açai physico-chemical and functional characteristics during microfiltration process. Gross açai pulp was centrifuged to reduce the suspended solids and lead to a better conduction of the microfiltration process. Microfiltration was carried out in a tubular ceramic system with a 0.1µm pore size membrane and 0.022m² of filtration area. Processes were conducted in batch mode, with recirculation of retentate, at 21°C, 2bar transmembrane pressure and VCF equal to 2 and 3. Average permeate flux was 130.5L/h.m² for VCF=2 and 109.6L/h.m² for VCF=3. On both conditions the characteristics of the two fractions derived from açai microfiltration were satisfactory. The physical and chemical parameters like pH and acidity were not considerably affected by the process. Soluble solids and the pulp content, as expected, varied proportionally to VCF. It also affects the concentration of the health-related (bioactives) compounds that are responsible for the functional properties of açai. By increasing the VCF of açai pulp microfiltration the concentration of the bioactive compounds increases in the retentate fraction.

INTRODUCTION

Food and drinks processing may change the natural characteristics of the fruits. In order to guarantee the microbiological stability of fruit juices, they are pasteurized at temperatures around 90°C, which increases their shelf life and assure their safety, but affect the nutritional value, loosing or reducing the vitamins activity. Thermal process such as pasteurization can be replaced by microfiltration, a membrane process that occurs at room temperature and moderate pressure, and guarantee the sterilization of the juice without adding chemicals or generate residues. The main advantage of microfiltration is the preservation of the heat sensitive compounds and the utilization of all the process fractions, adding value to the product.

Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) is a palm tree widely distributed in north region of South America with its greatest occurrence and economic importance in flood plains of the Brazilian Amazonian state of Pará (Murrieta *et al.*, 1999 and Muniz-Miret *et al.*, 1996).

Fruits are rounded, dark purple, measure from 1 to 1.4cm in diameter and are mainly harvested between July and December (Rogez, 2000). The edible pulp of açai fruits is commonly macerated with water to produce a thick, purple beverage of creamy texture, oily appearance and characteristic flavor (Muniz-Miret *et al.*, 1996). Considerable interest has been generated by its high anthocyanin content antioxidant capacity (Coisson *et al.*, 2005; Gallori *et al.*, 2004). The health-related implications of its consumption includes a wide range of biological effects like antibacterial, anti-inflammatory, antiallergic, hepatoprotective, antiviral, anticarcinogenic and vasodilatory actions (Middleton Jr *et al.*, 2000).

A lot of studies had been conducted on the evaluation of fruit juices microfiltration (Campos *et al.*, 2002; Cassano *et al.*, 2003; Silva *et al.*, 2005; Espamer *et al.*, 2006 and Fontes and Caminoto, 2007), but the effects of processing on the functional properties of the fruits were not yet evaluated.

This study had as objective to evaluate the influence of concentration factor during microfiltration process on the açai functional characteristics.

MATERIALS AND METHODS

Material

It was used gross açai pulp, directly bought from a production company, situated in Belém, PA.

Methodology

Gross açai pulp was centrifuged in a basket centrifuge, previously to microfiltration, aiming to reduce the suspended solid content of the pulp and consequently to improve the microfiltration process.

Microfiltration was carried out in a tubular ceramic system with a 0.1µm pore size membrane with 0.022m² of filtration area. Processes were conducted at 21°C, 2bar transmembrane pressure in batch mode, by recirculating the retentate stream. Both experiments were carried out with 4L of centrifuged açai pulp.

The volumetric concentration factor (VCF) is defined as the initial volume divided by the retentate volume at any time. The retentate volume was determined by the difference between the initial feed and permeate volumes. Processes with two VCF, equal to 2 and 3, were evaluated.

The total permeation rate was calculated from the permeate volume collect during a certain time. The following expression was used to calculate the total flux (J):

$$J = \frac{V}{A * \Delta t} \quad (1)$$

where V represents the permeate volume, A is the membrane area, Δt is the time interval.

Samples of the three process streams feed, permeate and retentate were taken for the following analysis: total antioxidant capacity (TAC), total phenolic compounds (TP), total anthocyanins (TA), soluble solids (SS), pH and acidity (A).

The antioxidant capacity was determined by an improved version of the 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) free radical decolorization assay (Re *et al.*, 1999) measuring the absorbance at 760 nm. Phenolic compounds were determined by Folin-Ciocalteu method (Singleton and Rossi, 1965, Georgé *et al.*, 2005) and the absorbance values were measured at 734nm. The anthocyanins were also determined by spectrophotometry (Fuleki and Francis, 1968), measuring the absorbance at 528nm. Acidity and pH were measured by potentiometric method and the soluble solids content was analyzed by refractometric method (AOAC, 2000).

All the analyses were made in triplicate.

RESULTS AND DISCUSSION

The permeate flux behavior with the processing time can be observed in Figure 1.

Average permeate flux was 130L/h.m² for VCF=2 and 110L/h.m² for VCF=3 and both processes showed the same classic flux behavior that decreased with time due to the concentration polarization and fouling phenomena. Although the same behavior was observed for the clarification of other fruit juices by membrane processes (Espamer *et al.*, 2006; Silva *et al.*, 2005; Campos *et al.*, 2002), average permeate fluxes were quite higher. Espamer *et al.* (2006), when processing lemon juice in a 0.2 µm polymeric membrane, obtained 20L/h.m² of permeate flux. Silva *et al.* (2005) and Campos *et al.* (2002) microfiltered, respectively, passion fruit juice and cashew apple juice in tubular polymeric membranes of 0.3µm, attaining average permeate fluxes of 25L/h.m² and 70L/h.m².

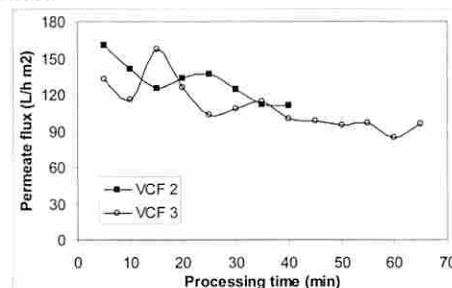


Figure 1. Permeate flux with processing time for different VCF (volumetric concentration factor) on açai microfiltration.

The average permeate fluxes reached by the present work were also quite higher than that obtained by Fontes and Caminoto (2007), of 8L/h.m², when processing a mixture of *açaí* and water in a 0.2µm commercial ceramic system.

In Figure 2 it is showed the volumetric concentration factor behavior with time processing. It is possible to verify that the processes had the same profile.

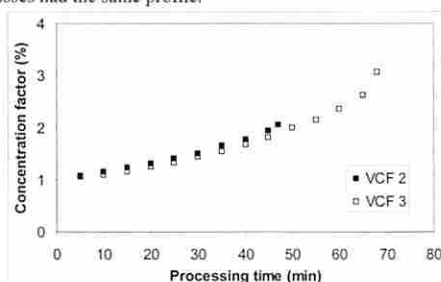


Figure 2. Volumetric concentration factor with time processing on *açaí* microfiltration.

The characteristics of the three streams of microfiltration process are presented in Table 1, for VCF=2 and Table 2, for VCF=3.

The values of the bioactive compounds of *açaí* feed stream (Tables 1 and 2) were higher than those presented by Kuskoski *et al.* (2005), which obtained for a commercial *açaí* pulp 9.4µmol Trolox/g of TAC and 136.8mg gallic acid/100g of TF, using the same methodologies.

In Tables 1 and 2 it can be observed that the clarification process did not change the streams pH, but it has influenced all the others characteristics. The highest values of functional compounds were found in the retentate fraction, while the smallest ones were in the permeate fraction. Similar results were obtained by Silva *et al.* (2005) and Campos *et al.* (2002), when analyzing vitamin C in passion fruit and cashew apple juices, respectively. Vitamin C contents were lower in the permeate fraction when compared to feed fraction.

Table 1. Characteristics of process streams of *açaí* microfiltration (VCF 2)

Parameter	Feed	Permeate	Retentate
pH	4.15 ± 0.01	4.15 ± 0.01	4.17 ± 0.01
Soluble solids ("Brix)	2.50 ± 0.10	1.57 ± 0.06	2.83 ± 0.06
Acidity (mg ^a /100g)	0.23 ± 0.00	0.20 ± 0.00	0.26 ± 0.00
Pulp content (%)	6.27 ± 0.58	nd	8.62 ± 0.49
Total polyphenols (mg ^b /100g)	266.94 ± 2.67	131.92 ± 2.82	335.62 ± 10.77
Total anthocyanins (mg ^c /100g)	36.27 ± 1.23	18.03 ± 0.23	64.40 ± 1.64
Antioxidant capacity (µmol Trolox/g)	21.60 ± 1.54	13.22 ± 1.46	28.02 ± 2.09

Expressed in ^a = citric acid, ^b = gallic acid, ^c = cyanidine-3-glucoside. Values are average of triplicate data with the respective standard deviation.

Table 2. Characteristics of process streams of *açaí* microfiltration (VCF 3)

Parameter	Feed	Permeate	Retentate
pH	4.16 ± 0.01	4.16 ± 0.01	4.17 ± 0.01
Soluble solids ("Brix)	2.43 ± 0.06	1.77 ± 0.06	4.00 ± 0.10
Acidity (mg ^a /100g)	0.23 ± 0.00	0.19 ± 0.01	0.25 ± 0.01
Pulp content (%)	5.28 ± 1.05	nd	12.33 ± 0.58
Total polyphenols (mg ^b /100g)	347.58 ± 11.94	178.10 ± 2.91	585.86 ± 26.67
Total anthocyanins (mg ^c /100g)	41.93 ± 0.73	19.05 ± 0.07	71.56 ± 1.29
Antioxidant capacity (µmol Trolox/g)	26.12 ± 7.20	12.57 ± 1.32	38.29 ± 5.57

Expressed in ^a = citric acid, ^b = gallic acid, ^c = cyanidine-3-glucoside. Values are average of triplicate data with the respective standard deviation.

The properties of the permeate and retentate streams were compared to feed ones. In the permeate streams, all the parameters were lower than those of feed and the opposite behavior was verified for retentate streams. For this fraction the ratio was always higher than 1, indicating the increasing in the compounds concentration (Figure 3).

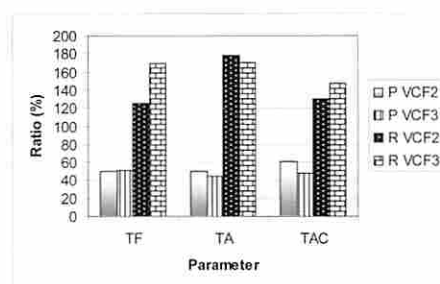


Figure 3. Ratio among permeate (P) and retentate (R) to feed properties of *açaí* microfiltration for different volumetric concentration factor (VCF). TF - total phenolic compounds, TA - total anthocyanins, TAC - total antioxidant capacity.

It was not verified an important difference between the parameters of the permeate stream obtained by the two VCF evaluated. Regarding the retentate streams, excluding the total anthocyanins, the parameters values for VCF=3 were higher than those for VCF=2, as expected.

When comparing the permeate data to that obtained (15.6µmol Trolox/g) by Cassano *et al.* (2003), which clarified orange juice by ultrafiltration, it is observed that even presenting lower values of antioxidant activity than that of retentate (28.02 to 38.29µmol Trolox/g), permeate fraction of *açaí* microfiltration (12.57 to 13.22µmol Trolox/g) is also a good source of antioxidants.

CONCLUSIONS

The volumetric concentration factor has a considerably effect on main *açaí* characteristics. It is possible to obtain higher concentration factors without affect negatively the functional compounds (as phenolics and anthocyanins), that are directly related to antioxidant capacity.

ACKNOWLEDGEMENTS

To PAVUC Project FP6-2003-Inco-Dev 2, for supporting the project, and to CAPES for the scholarship.

REFERENCES

-AOAC. 2000. "Official Methods of Analysis of the AOAC International". Washington: AOAC.

-Campos, D. C. P.; Santos, A. S.; Wolkoff, D. B.; Matta, V. M.; Cabral, L. M., Couri, S. 2002. "Cashew apple juice stabilization by microfiltration". Desalination 148, 61-65.

-Cassano, A.; Drioli, E.; Galaverna, G.; Marchelli, R.; Di Silvestro, G.; Cagnasso, P. 2003. "Clarification and concentration of citrus and carrot juices by integral membrane processes". Journal of Food Engineering 57, 153-163.

-Coisson, J.; Travaglia, F.; Piana, G.; Capasso, M.; Arlorio, M. 2005. "Euterpe oleracea juice as functional pigment for yogurt". Food Research International, 38, (8-9), 839-897.

-Espamer, L.; Pagliero, C.; Ochoa, A.; Marchese, J. 2006. "Clarification of lemon juice using membrane process". Desalination 200, 565-567.

-Fontes, S. R.; Caminoto, K. B. S. 2007. "Microfiltração tangencial aplicada na clarificação do suco de açaí". VI Congresso Ibero-Americano em Ciências e Tecnologia de Membrana, CITEM.

-Fuleki, T.; Francis, F. J. 1968. "Quantitative methods for anthocyanins. I. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries". Journal of Food Science, 33, 72-77.

-Gallori, S.; Bilia, A. R.; Bergonzí, M. C.; Barbosa, L. R.; Vincieri, F. F. 2004. "Polyphenolic constituents of fruit pulp of Euterpe oleracea Mart. (açai palm)". Chromatographia, 59, 739-743.

-Georgé, S.; Brat, P.; Amiot, M. J. 2005. "Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products". Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 1370-1373.

-Kuskoski, E. M.; Asuero, A. G.; Troncoso, A. M.; Mancini-Filho, J.; Fett, R. 2005. "Aplicação de diversos métodos químicos para determinar atividade antioxidante em pulpa de frutos". Ciênc. Tecnol. Alim., Campinas, 25 (4), 726-732.

-Middleton Jr, E.; Kandaswami, C.; Theoharides, T. C. 2000. "The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer". Pharmacol. Rev. 52, 673-839.

-Muniz-Miret, N.; Vamos, R.; Hiraoka, M.; Montagnini, F.; Medelsohn, R. O. 1996. "The economic value of managing the açai palm (Euterpe oleracea Mart.) in flood plains of the Amazon estuary". Pará, Brazil. Forest Ecol. Manage, 87, 163-173.

-Murrieta, R. S. S.; Dufour, D. L.; Siqueira, A. D. 1999. "Food consumption and subsistence in three caboclo populations on Marajó Island". Amazonia, Brazil. Human Ecol., 27, 455-475.

-Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. A. 1999. "Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay". Free Radical Biological and Medicine, 26, 1231-1237.

-Rogez, H. 2000. "Açaí: preparo, composição e melhoramento da conservação". Belém: EDUFPA.

-Ruíno, M. do S. M.; Alves, R. E.; Brito, E. S.; Moraes, S. M. de Sampaio, C. de G.; Pérez - Jiménez, J.; Saura - Calixto, F. D. 2007. "Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical ABTS". Tecnic communication CNPAT.

-Silva, T. T.; Modesta, R. C. D.; Penha, E. das M.; Matta, V. M. da; Cabral, L. M. C. 2005. "Suco de maracujá orgânico processado por microfiltração". Nota científica. Pesq. Agropec. bras., Brasília, v.40, n.4, 419-422.

-Singleton, V. L.; Rossi, J. A. 1965. "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents". Am. J. Enol. Vitic., 16, 144-1.

ELABORAÇÃO DE BEBIDA À BASE DE AÇAÍ, BANANA E XAROPE DE GUARANÁ UTILIZANDO A FRAÇÃO RETIDA NA MICROFILTRAÇÃO

Cristina B. Corrêa¹; Denise N. M. Palacio²; Ana Paula Gil Cruz²; Lourdes M. C. Cabral³; Virgínia M. Matta³.

¹Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ, Brasil. ²Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, Brasil, ³Embrapa Agroindústria de Alimentos. Avenida das Américas, 29501, Guaratiba. 23020-470 Rio de Janeiro, RJ, Brasil. vmatta@ctaa.embrapa.br

Palavras-chave: frutas da Amazônia, processos com membranas, novos produtos, *Euterpe oleracea*

RESUMO

Durante a clarificação de sucos por membranas de microfiltração, o aproveitamento da fração retida tem se mostrado essencial para a viabilidade econômica do processo. Além disso, as características da fração retida, muito similares às do suco original, mostram que o uso da mesma representa a valorização de um subproduto rico em compostos de interesse nutricional e funcional. Neste trabalho, foi estudada a utilização da fração retida da microfiltração da polpa de açaí para a elaboração de uma bebida nutritiva e de alto valor energético, adicionada de banana e xarope de guaraná. O açaí retido foi misturado com os demais ingredientes, adicionado de água e homogeneizado. Em seguida, a bebida formulada foi pasteurizada para garantir a sua segurança quanto à presença de microrganismos patogênicos. Amostras do açaí retido e da bebida pasteurizada foram avaliadas quanto às principais características físico-químicas, determinando-se, inclusive, os compostos bioativos e a atividade antioxidante. Foi realizada também a avaliação microbiológica do produto. Os resultados mostraram que a bebida elaborada, mesmo após a pasteurização, apresentou altos teores de antocianinas e de compostos fenólicos, assim como um valor elevado de atividade antioxidante, de 21,7 $\mu\text{mol Trolox/g}$, compatível com a quantidade de açaí utilizada na formulação. As análises microbiológicas mostraram que o produto estava dentro dos padrões exigidos pela legislação brasileira.

INTRODUÇÃO

O principal objetivo da utilização dos processos de microfiltração e ultrafiltração em sucos de frutas tem sido a obtenção do suco clarificado, ou seja, da fração permeada através da membrana (Borneman *et al.*, 2001; Ray *et al.*, 2003). Neste sentido, a microfiltração pode ser considerada como uma pasteurização a frio, pois os microrganismos são retidos pela membrana, assim como algumas enzimas que podem provocar alterações nos sucos.

Entretanto, com o avanço do estudo dos compostos presentes nos sucos, particularmente aqueles de interesse nutricional e/ou funcional, alguns trabalhos começaram a estudar o aproveitamento da fração retida (Penha *et al.*, 2001; Matta *et al.*, 2002; Cianci *et al.*, 2004)

Um das principais vantagens dos processos de separação por membranas, entre eles a microfiltração, é que são tecnologias que utilizam baixas temperaturas, contribuindo para a manutenção das propriedades termosensíveis das frutas.

O açaizeiro (*Euterpe oleracea*) é uma palmeira abundante na Amazônia, principalmente nas áreas de várzea (Nogueira, 2005). Dos seus frutos se produz a bebida, consumida diariamente como parte do hábito alimentar da população na região norte do Brasil e com crescente consumo pelos jovens nas demais regiões do país, em função do seu apelo como produto energético.

O açaí possui elevado teor de antocianinas (pertencentes à família dos flavonóides, classe dos compostos fenólicos), responsável pela sua cor (Nogueira, 2005). Em função dessa composição em compostos antioxidantes, que são capazes de prevenir ou retardar a oxidação de materiais, seu consumo tem sido relacionado a efeitos protetores contra doenças cardiovasculares e câncer, por prevenirem a formação de radicais livres (Alves, 2007).

No processo de obtenção de suco de açaí clarificado por microfiltração, o uso da fração retida pela membrana contribui para a viabilidade econômica do processo e possibilita aproveitar a sua grande potencialidade, em termos de composição química, para elaboração de produtos de maior valor agregado.

Nesse sentido, este trabalho teve como objetivo o estudo da utilização da fração retida do açaí, durante a sua clarificação por membranas, como base para uma bebida nutritiva, formulada com banana e guaraná.

MATERIAL E MÉTODOS

Matérias-primas

Como matérias-primas foram utilizadas polpa de açaí grosso (teor de sólidos totais superior a 14%, Brasil, 2000), adquirida diretamente da empresa produtora em Belém/PA, banana nanica e xarope de guaraná orgânico, adquiridos no comércio local do município do Rio de Janeiro.

Metodologia experimental

O açaí utilizado na elaboração da bebida foi o proveniente da fração retida da microfiltração da polpa. As etapas para obtenção da fração retida estão mostradas no fluxograma da Figura 1. A polpa de açaí grosso foi refinada em despulpadeira Bonina 0.25df, com malha de 0,6 mm, sendo posteriormente diluída até atingir a concentração de sólidos totais da polpa de açaí fino (teor de sólidos totais entre 8% e 11%). A polpa de açaí fino foi microfiltrada em um sistema composto por quatro membranas cerâmicas tubulares em série, com tamanho de poro de 0,1 μm e área total de permeação de 0,022m². O açaí retido, matéria-prima para a bebida, foi proveniente de dois processos de microfiltração, conduzidos a 2,0 Bar e temperatura média de 25°C, com fatores de concentração de 3,3 e 2,5.

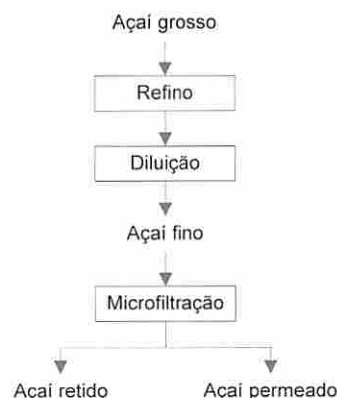


Figura 1. Fluxograma representativo das etapas de obtenção do açaí retido.

A bebida foi formulada com 40% de açaí retido, 10% de banana, 15% de xarope de guaraná orgânico e água, utilizando-se liquidificador industrial para a sua homogeneização. Em seguida, foi feita a pasteurização da bebida em pasteurizador tubular, a 92°C por 20 segundos, seguido de resfriamento imediato e o envase em garrafas de vidro.

O açaí retido e a bebida formulada, antes e após a pasteurização, foram analisados quanto aos parâmetros físico-químicos pH, acidez e sólidos solúveis (AOAC, 2000).

O açaí retido e a bebida pronta, já pasteurizada, foram analisados para determinação de antocianinas totais (AT), por método espectrofotométrico, expressando-se o resultado em equivalente de cianidina-3-glicosídeo (Fuleki e Francis, 1968), fenólicos totais (FT), determinado por espectrofotometria, utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu, sendo o resultado expresso em equivalente de ácido gálico (Singleton e Rossi, 1965; Georgé *et al.*, 2005) e atividade antioxidante utilizando o método de redução do radical ABTS (TEAC), sendo expressa em Trolox equivalente (Re *et al.*, 1999; Rufino *et al.*, 2007).

A fim de avaliar a influência do tratamento térmico sobre a cor do produto, determinou-se o teor de antocianinas totais também na bebida antes da pasteurização.

Da mesma forma, para verificar a eficiência do tratamento térmico, as análises microbiológicas da bebida (coliformes a 45°C e *Salmonella* spp) (APHA, 1995) foram realizadas antes e após a pasteurização.

As análises foram realizadas em triplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As características físico-químicas do açaí retido e da bebida, antes e após a pasteurização, estão representadas na Tabela 1.

Tabela 1. Caracterização físico-química do açaí retido e da bebida.

Parâmetro/Amostra	AR	BNP	BP
pH	4,6±0,0	4,0±0,0	4,1±0,0
Sólidos solúveis (°Brix)	2,7±0,2	12,7±0,2	12,7±0,2
Acidez (g/100g)*	0,2±0,0	0,2±0,0	0,2±0,0

*expresso em equivalente de ácido cítrico.

Valores apresentados: média de triplicata ± desvio padrão. AR- açaí retido, BNP- bebida não pasteurizada, BP- bebida pasteurizada.

Na Tabela 2 estão apresentados os teores de compostos fenólicos, antocianinas totais e a atividade antioxidante nas amostras do açaí retido e da bebida pasteurizada.

O teor de antocianinas totais da bebida foi maior do que o esperado, considerando-se a concentração de antocianinas do açaí retido e a quantidade de açaí utilizada na formulação. A homogeneização dos ingredientes pode ter provocado rompimento de células e liberação de material celular, facilitando a extração dos pigmentos, e aumentando, conseqüentemente, o teor de antocianinas na bebida.

Tabela 2. Valores de antocianinas, polifenóis e atividade antioxidante (TEAC) do açaí retido e da bebida pasteurizada.

Parâmetro/Amostra	AR	BP
Antocianinas totais* (mg/100g)	63,2 ± 5,2	46,3 ± 1,3
Fenólicos totais* (mg/100g)	705,8 ± 17,4	315,5 ± 4,2
Atividade antioxidante* (µmol/g)*	42,3 ± 2,3	21,7 ± 0,2

*expresso em equivalente de cianidina-3-glicosídeo, ac.gálico, Trolox. Valores apresentados: média de triplicata ± desvio padrão. AR- açaí retido, BP- bebida pasteurizada

Com relação aos compostos fenólicos, entretanto, os teores determinados na bebida correspondem ao previsto, avaliando-se a quantidade de açaí utilizado na formulação. Os compostos fenólicos da bebida corresponderam a, aproximadamente, 45% dos fenólicos do açaí retido.

O valor da atividade antioxidante da bebida também foi proporcional, correspondendo a 50% do valor da atividade antioxidante do açaí retido. A atividade antioxidante da bebida formulada pasteurizada, de 21,7 µmol Trolox/g, é elevada ao se comparar com o valor determinado por Kuskoski *et al.* (2005) para a polpa de açaí congelada comercial.

Não foi verificada perda de antocianina em função do tratamento térmico, ao contrário, houve um pequeno aumento, de 39,0 ± 1,4 para 46 ± 1,3 mg/100g de polpa.

Segundo Rogez (2000), a temperatura não tem impacto significativo sobre as antocianinas. Ele considera que o tratamento térmico pode ter um impacto positivo importante pela destruição das enzimas de degradação desses pigmentos e pela eliminação dos tecidos celulares, o principal substrato necessário à sua oxidação.

Os resultados da análise microbiológica da bebida pasteurizada, ausência de *Salmonella* em 25g e número mais provável de coliformes a 45°C menor que 3, mostraram que a mesma encontra-se adequada para o consumo, pois seus valores estão de acordo com os parâmetros estabelecidos pela legislação brasileira, à qual estabelece para *Salmonella*, ausência de em 25g, e um limite máximo para coliformes a 45°C de 1,0 NMP/g (Brasil, 2001)

CONCLUSÕES

A bebida elaborada a partir do retido do açaí durante a microfiltração da sua polpa apresentou características físico-químicas compatíveis com as do açaí e teores de compostos bioativos, e atividade antioxidante, que indicam a sua potencialidade como alimento nutritivo e funcional.

AGRADECIMENTOS

Projeto PAVUC FP6-2003-INCO-DEV 2.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves, R. E.; Brito, E. S.; Saura-Calixto, F. D.; Rufino, M. Do S. M.; Pérez-Jiménez, J. 2007 "Compostos com propriedades funcionais em frutas". II Simpósio Brasileiro de Pós-Colheita, 179-187.
- AOAC. 2000. "Official Methods of Analysis of the AOAC International". 17th Ed. Washington.
- Apha. 1995. "Compendium Of Methods For The Microbiological Examination Of Foods". Washington: Apha.
- Borneman, Z.; Gokmen, V.; Nijhuis, H.H. 2001. "Selection removal of polyphenols and brown colour in apple juices using PES/PVP membranes in a sible ultrafiltration process". Separation and Purification Technology, n.22, 53-61.
- Brasil, 2000. "Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa no. 01, de 07 de janeiro de 2000". Regulamento Técnico Geral para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Polpa de Fruta.
- Brasil, 2001. "Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 12, de 2 de Janeiro de 2001". Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos.
- Cianci, F. C.; P. L. R.; T. S. C.; Furtado, A. A. L.; Cabral, L. M. C.; Matta, V. M. "Pasteurização do retentado da microfiltração do suco de caju." In: XIX Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2004, Recife. Anais do XIX Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Recife. Anais. Fortaleza. SBCTA, 19, 2004, 1 CD-ROM.
- Fuleki, T.; Francis, F. J. 1968. "Quantitative methods for anthocyanins. 1. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries". Journal of Food Science, 33, 72-77.
- Georgé, S.; Brat, P.; Amiot, M. J. 2005. "Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products". Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 1370-1373.
- Kuskoski, E.M.; Asuero, A.G.; Troncoso, A. M.; Mancini-Filho, A.; Fett, R. 2005. "Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante em pulpa de frutos". Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.25, n. 4, 726 - 732.
- Matta, V. M.; Furtado, A. A. L.; Cabral, L. M. C.; Silva, L. F. M.; Pontes, S. M. 2002. "Microfiltração de suco de acerola: Avaliação da fração retida." In: XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2002, Porto Alegre. Anais do XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos.
- Nogueira, O.L. 2005. "Açaí" (Nogueira, O.L.; Figueirêdo, F.J.C.; Müller, A.A. ed.) Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental. (Sistemas de produção 4) 137p.
- Penha, E. M.; Braga, N. C. A. S.; Matta, V. M.; Cabral, L. M. C.; Modesta, R. C. D.; Freitas, S. C. 2001. "Utilização de retentado da ultrafiltração do suco de acerola na elaboração de licor". CEPPA, v19, n2, 267-276.
- Singleton, V. L.; Rossi, J. A. 1965. "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents". Am. J. Enol. Vitic., 16, 144-158.
- Ray, K.; Raychowdhury U.; Chakraborty R. 2003. "Physico-chemical characteristics of lemon juice clarified through ultrafiltration membrane". Journal of Food Science and Technology -Mysore, v.40, n.2., 194-196.
- Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. A. 1999. "Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay". Free Radical Biological and Medicine, 26, 1231-1237.
- Rogez, H. 2000. "Açaí: preparo, composição e melhoramento da conservação" Belém: EDUFPA.
- Rufino, M. do S. M.; Alves, R. E.; Brito, E. S.; Moraes, S. M. de Sampaio, C. de G.; Pérez - Jiménez, J.; Saura - Calixto, F. D. 2007. "Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical ABTS.+". Comunicado Técnico CNPAT.

ESTUDO DA HIGROSCOPICIDADE DO LEITE DE CABRA EM PÓ PRODUZIDO NA SECAGEM DO LEITO DE JORRO COM PARTÍCULAS DE POLIPROPILENO E AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICAS DO LEITE RECONSTITUÍDO

Medeiros, Uliana Karina Lopes¹; Marciano, Leonardo Almeida¹; Nascimento, Ruthnéia Jéssica Alves¹; Passos, Maria Laura Azevedo²; Medeiros, Maria de Fátima Dantas¹

¹UFRN, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Tecnologia – Departamento de Engenharia Química – Programa de Pós Graduação em Engenharia química

²UFMG, Universidade Federal de Minas Gerais – Departamento de Engenharia Química.

¹Campus Universitário - CEP: 59072-970 E-mail: mariadefatima@eq.ufrn.br

Natal – RN - Brasil

Palavras chave: secagem, leite de jorro, leite de cabra, higroscopicidade, propriedades

RESUMO

O leite *in natura*, uma fonte rica de proteínas e vitaminas, é um alimento perecível, cuja conservação se processa por meio de diferentes técnicas (resfriamento, secagem e pasteurização ultra rápida). O *spray dryer* é utilizado no processo industrial para produção de leite em pó, porém este secador apresenta algumas desvantagens restritivas para as indústrias e cooperativas de pequeno porte, como o seu elevado custo e a sua dependência tecnológica do know-how estrangeiro. O leite de jorro tem sido estudado nas últimas décadas, principalmente, para a aplicação em secagem de pastas e suspensões. Este secador difere do *spray dryer*, por ser de baixo custo, porém os dois secadores se igualam quando à qualidade do pó produzido. Visando proporcionar aos pequenos produtores rurais benefícios sócios econômicos, tem-se estudado a viabilidade de se utilizar o leite de jorro na secagem do leite de cabra. O objetivo deste trabalho é obter o leite de cabra em pó, utilizando a técnica do leite de jorro com partículas de polipropileno, e avaliar a higroscopicidade deste pó e a sua reconstituição em água, comparando-a com a do leite em pó produzido industrialmente (*spray dryer*).

INTRODUÇÃO

A produção do leite em pó é uma importante fonte de renda e constitui-se uma das grandes potencialidades da região nordeste, em particular a produção de leite caprino e bovino. Considerando que o Rio Grande do Norte é o maior produtor de leite caprino do nordeste e que poucas são as empresas nacionais que processam este leite para a produção do seu pó, devido principalmente ao elevado investimento para a implantação de unidades de secagem em *spray*, tem-se estudado na UFRN uma rota tecnológica alternativa para a produção do leite de cabra em pó utilizando o leite de jorro (Andrade Júnior *et al.* 2005).

O secador de leite de jorro é adequado à secagem de pastas e suspensões em pequena escala e fornece produtos de qualidade similar aos obtidos no secador *spray*, além de apresentar outras vantagens como o seu baixo custo de investimento, a sua facilidade de construção, instalação e operação. Na literatura, poucos são os trabalhos relacionados com a secagem de leite em leite de jorro. Martinez *et al.* (1993) estudaram a secagem do leite integral (homogeneizado e não homogeneizado) e do leite desnatado em leite de jorro com partículas inertes (polipropileno de 3,9 m de diâmetro), visando comparar seus produtos com aqueles obtidos em secador *spray*. Dando continuidade a estes seus estudos, Martinez *et al.* (1995) avaliaram a secagem em leite de jorro do leite integral em diferentes concentrações de gordura (homogeneizado e não homogeneizado) e do leite desnatado para determinar a influência do teor de gordura, pH, adição de cálcio e da presença de açúcares na produção, coleta e reconstituição do leite em pó.

O presente trabalho tem como objetivos: caracterizar o pó (higroscopicidade, densidade, escoabilidade, diâmetro) produzido na secagem intermitente em leite de jorro com inertes de polipropileno e analisar as propriedades físicas do leite em pó reconstituído mediante sua comparação com o pó produzido industrialmente.

MATERIAIS E MÉTODOS

Uma primeira série de ensaios foi realizada para escolher: (i) a forma (pulverizada ou gotejante) e o modo (intermitente ou contínuo) de se alimentar a emulsão de leite no leite de inertes e (ii) o material (partículas de polietileno ou de polipropileno) a ser utilizado como inerte, responsável direto pelo regime de jorro. Baseadas nas eficiências de produção/coleta de pó foram selecionadas as seguintes condições para processamento: alimentação gotejante e intermitente da emulsão de leite; leite de inertes formado por partículas de polipropileno. As condições

operacionais utilizadas nos ensaios para a produção do pó foram fixas em relação à carga de inerte (2500 g de polipropileno), massa de leite alimentada (500 ml de leite de cabra *in natura*), temperatura de operação (90°C)

As isotermas de sorção foram obtidas a partir da umidificação de amostras de aproximadamente 1,0 g (em triplicata), previamente pesadas, acondicionadas em cápsulas, e colocadas no dessecador estando expostas a uma atmosfera de 92%, obtida através de uma solução de NaCl (1molal). Foram acompanhadas as medidas de atividade de água (A_w) no Aqualab em intervalos de tempo pre-determinados com posterior pesagem das amostras, para cálculo de umidade. Inicialmente as medidas eram efetuadas em intervalos de 1 hora, aumentando-se este intervalo à medida que a atividade de água tendia a estabilizar. As medidas foram acompanhadas por aproximadamente três dias. Objetivando definir um modelo para a determinação das isotermas de sorção do pó, foram utilizados modelos propostos na literatura. Os modelos estatísticos foram aplicados com o auxílio do software "STATISTICA 7.0". O ensaio para determinação da densidade aparente (ρ_{ap}) do leite de partícula em pó seguiu a metodologia proposta por Hahne (2001), sendo: mesma medida em duas condições específicas, a de empacotamento livre e a de compactação máxima. A escoabilidade (θ) do leite em pó foi avaliada pelo ângulo de repouso estático, cuja metodologia de medida consistiu em fixar um funil a uma dada altura h de uma superfície horizontal, despejando vagarosamente a amostra do leite em pó através do funil. A partir das medidas do raio e da altura do cone formado pelo leite em pó, determinou-se o ângulo de repouso. O tamanho das partículas ($D_{médio}$) tem grande importância na reconstituição da emulsão do leite. A distribuição granulométrica do leite em pó foi obtida no granulômetro a laser, do tipo CILAS 1180.

Uma segunda etapa, os pós produzidos nos ensaios de secagem em leite de jorro eram coletados e re-hidratados. Três matéria-primas foram utilizadas neste trabalho: o leite de cabra *in natura*, o leite de cabra reconstituído do pó produzido industrialmente no secador *spray* e o leite de cabra reconstituído do pó produzido em escala de laboratório (leite de jorro). O leite em pó foi reconstituído até a faixa de 12% de sólidos. As propriedades físicas estudada foram a tensão superficial (τ), a densidade (d) e a viscosidade (μ). A tensão superficial foi medida em um tensiômetro, marca CSC Du NOY, que se baseia no método do anel. As medidas de densidade foram obtidas por picnometria, utilizando-se picnômetros padrões de 50 ml previamente calibrados. Para os ensaios reológicos, utilizou-se um reômetro digital (RheoStress - marca Haake, modelo RS-150) acoplado a um banho termostático (marca Haake, modelo K20). Para as propriedades termodinâmicas condutividade térmica (K), difusividade térmica (α) e calor específico (C_p), utilizou-se o instrumento KD2 Decagon, calibrado previamente, que mede diretamente a difusividade térmica e condutividade térmica.

RESULTADOS

Apresentam-se, na Figura 1, dados experimentais e modelos de ajuste das isotermas de sorção para o leite em pó produzido no leite de jorro e no secador *spray*. Dentre os modelos pesquisados, foram ajustados os de HALSEY (1948), GAB e SMITH (1947) para ambos os pós. De acordo com os resultados apresentados na Figura 1, o modelo de GAB é o que melhor se ajusta aos dados de umidade em função da atividade de água do pó produzido no jorro, enquanto para os dados do pó produzido no secador *spray*, além do modelo de GAB, o modelo de HALSEY se ajusta bem. Na Figura 1 observa-se que para o mesmo nível de umidade o leite em pó obtido no jorro tem atividade de água inferior ao do leite em pó produzido no *spray*.

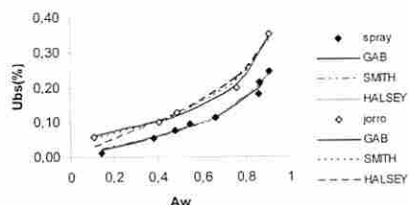


Figura 1 - Modelos de isoterma de sorção para o leite em pó produzido em leite de jorro e em spray dryer. Umidade em base seca versus atividade de água

As propriedades físicas dos pós são apresentadas na Tabela 1. As partículas do leite de cabra apresentam menor diâmetro do que as do leite bovino, verificando-se que, tanto para o leite bovino como para o de cabra, a secagem em leite de jorro fornece pós mais finos. Entretanto, estes pós apresentam dificuldade de escoamento, avaliada pelo ângulo de repouso superior a 40°. Verifica-se que o leite de cabra industrializado apresenta densidade superior ao leite produzido no jorro, tanto nas condições de escoamento livre como sob compactação.

De modo geral, o leite em pó produzido no jorro e aquele produzido no *spray* apresentam distribuição granulométrica, densidade e escoabilidade compatíveis, resultado também encontrado por Martinez et al 1993, onde o autor aponta a temperatura de saída (70°C) como um dos fatores responsáveis pela produção de pó no jorro com características similares aos pós produzidos no *spray*.

Tabela 1 - Propriedades físicas do leite em pó

Amostras	θ (°)	ρ_{ap-min} (kg/m ³)	ρ_{ap-max} (kg/m ³)	D _{médio} (μ m)
Leite de cabra (<i>spray</i>)	45,1	440,3	592,9	265,3
Leite de cabra (jorro)	44,3	328,0	541,0	210,4

A caracterização física do leite de cabra *in natura* e reconstituído foi realizada na temperatura de 23°C. O efeito da secagem na densidade do leite reconstituído, quer em leite de jorro ou em secador *spray*, é o mesmo para a tensão superficial e a viscosidade, como visto na Tabela 2. Após a reconstituição, estas propriedades físicas do leite (densidade, tensão superficial e viscosidade) apresentam valores superiores ao do leite *in natura*, independente do processo de secagem, sendo este efeito mais evidente na viscosidade e na tensão superficial. Para se explicar este resultado deve-se pesquisar as possíveis modificações na estrutura e composição do leite, em função dos processos de aquecimento e atomização do material envolvido tanto na secagem em leite de jorro como no secador *spray*. As propriedades termofísicas analisadas para o leite *in natura* e para o leite reconstituído, conforme dados apresentados na Tabela 2, não sofreram alterações importantes devido ao processo de secagem.

Tabela 2 - Caracterização física do leite de cabra *in natura* e reconstituído.

Propriedades	Leite 1	Leite 2	Leite 3
d(kg/m ³)	1032,4 ± 1,0	1035,1 ± 2,0	1038,3 ± 1,0
τ (dyna/cm)	36,16 ± 0,18	37,54 ± 0,15	39,28 ± 0,09
μ (Pa.s)	0,002	0,003	0,003
K (W/m °C)	0,56 ± 0,005	0,46 ± 0,015	0,56 ± 0,020
α (m ² /s)	1,20×10 ⁻⁰⁷	1,10×10 ⁻⁰⁷	1,27×10 ⁻⁰⁷
Cp (KJ/kg °C)	4,84 ± 0,049	4,28 ± 0,143	4,56 ± 0,265

Leite 1 – leite de cabra *in natura*

Leite 2 – leite de cabra reconstituído (*spray dryer*)

Leite 3 – leite de cabra reconstituído (leite de jorro)

O efeito da temperatura na densidade do leite *in natura* e de reconstituído é mostrado na Figura 2. Nota-se que a densidade das duas amostras diminui à medida que a temperatura é acrescida. Tal comportamento é esperado para líquidos puros (água). Comparativamente, a densidade do leite *in natura* é inferior ao leite reconstituído. Os dados se ajustaram a modelos polinomiais de segunda ordem, com coeficientes de correlação iguais a 0,990 e a 0,989 para o leite reconstituído e para o *in natura* respectivamente.

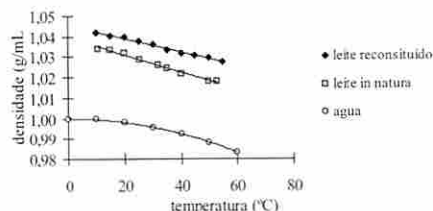


Figura 2 - Efeito da temperatura na densidade do leite de cabra *in natura* (X = 12%), na densidade do leite de cabra reconstituído (X = 11,8%) e na densidade da água

CONCLUSÕES

O leite em pó produzido em leite de jorro e o produzido no secador *spray* apresentaram distribuição granulométrica, densidade e escoabilidade compatíveis. Em relação a escoabilidade, as medidas do ângulo de repouso demonstram que ambos os pós apresentam dificuldade no escoamento. Os modelos avaliados apresentaram bom ajuste aos dados experimentais, podendo o modelo de GAB ser utilizado para predição de dados de adsorção à temperatura de 25°C para os dois produtos estudados.

As propriedades do leite reconstituído produzido no leite de jorro apresentaram comportamento similar ao leite *in natura*, com pequenas variações nas propriedades físicas, também observadas no leite reconstituído produzido no secador *spray*. Conclui-se que o leite em pó produzido em leite de jorro é compatível com aquele produzido no secador *spray* e, quando reconstituído, mantém as características do leite *in natura* com pequenas modificações nas propriedades físicas, possivelmente decorrentes dos processos de aquecimento e atomização da emulsão envolvidos tanto na secagem em leite de jorro como no secador *spray*.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo apoio financeiro a pesquisa e desenvolvimento deste trabalho.

REFERÊNCIAS

Andrade Júnior, W. M., Xavier, C. H., Aratijo, A. A. L., Jácome, B. C., Medeiros, U. K. L², Pedrini, M. R. S. e Medeiros, M. F. D. Secagem de Leite em Leite de Jorro. Trabalho. VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica – VI COBEQ-IC, Campinas, SP, 2005.
 Hahne, L. C. C., *Estudo Experimental da Secagem de Aglomeração de Partículas no Vibro-fluidizado na Produção de Leite em Pó*. 2001. Dissertação de Mestrado – Departamento de Engenharia Química, Curso de Pós-graduação, Universidade Federal de Minas Gerais.
 Martinez, L. O.; Brennan, J. G. e Niranjana, K., Spouted bed dryer for liquid foods. Food Control, v.4, n.1, p. 41-45, 1993.
 Martinez, L. O.; Brennan, J. G. e Niranjana, K., Estudio del secado de alimentos líquidos en un secador de fuente con partículas inertes. Anais do I Congresso Ibero Americano de Alimentos, Campinas, p. 72-81, 1995.

OPTIMIZACION DE LOS PARAMETROS FISICOQUIMICOS PARA LA EXTRACCION ALCALINA DE PROTEINAS DE HIGADO DE BOVINO, APLICANDO EL METODO DE SUPERFICIE DE RESPUESTA

Morales, Eduardo; Elías, Carlos y Salvá, Bettit
UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS Y PRODUCTOS AGROPECUARIOS
FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
Av. La Molina s/n, La Molina. Email: erms@lamolina.edu.pe
LIMA – PERÚ

Palabras clave: Tecnología, Hígado de res, proteínas, ferritina, superficie respuesta

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue optimizar la etapa de extracción alcalina del proceso de obtención de un aislado proteico a partir de hígado de bovino, mediante el método de superficie de respuesta. De las tres etapas realizadas: Screening, Escalamiento y Optimización Final, se obvió la etapa de Escalamiento debido a que el efecto curvatura fue positivo, lo que indicó que la Variable Respuesta (Y) en los experimentos iniciales, se encontraba cerca de la región óptima. La Variable Respuesta es el porcentaje de proteína obtenido en la etapa de extracción alcalina, respecto a la proteína total de la materia prima.

En el Screening se identificaron las cuatro variables que afectan el proceso, relación materia prima: solvente (1:x1), pH (x2), temperatura (x3) y tiempo (x4). Se realizó una primera optimización mediante un Diseño Compuesto Central, dando como resultado una superficie de respuesta del tipo silla, con un punto estacionario donde se obtuvo un rendimiento de 75,08%. Sin embargo, existían mayores rendimientos alejados de este punto, por lo que se realizó una segunda optimización estableciendo como nuevo punto central el punto de máxima extracción del primer caso. También se obtuvo una superficie respuesta tipo silla, siendo el punto estacionario cuando $x_1 = 11,01$ mL, $x_2 = 9,93$, $x_3 = 30,98$ °C y $x_4 = 52,90$ minutos, alcanzándose un rendimiento de extracción (Y) = 90,74 %. Las proteínas así extraídas fueron precipitadas a pH 4,5 y, con la finalidad de secarlas por atomización, fueron neutralizadas con NaOH 0,1N y llevadas a una concentración 7,6% de sólidos totales. El aislado proteico así obtenido presenta un contenido de humedad de 4,89%, un 78,42% de proteína; 11,63% de grasa; 2,32% de ceniza y 2,74% de extracto libre de nitrógeno.

INTRODUCCIÓN

En la industria del beneficio de vacunos, no existe actualmente un eficiente aprovechamiento del hígado, materia prima que cuenta con un elevado nivel de proteínas y de hierro (Lantero et al., 1996a). El hígado contiene aproximadamente 19% de proteínas (Osborne y Voogt, 1986). La ferritina es una proteína de depósito de hierro (proteína férrica), que se forma en el intestino y se almacena en el hígado. La ferritina es la principal fuente corporal para el abastecimiento de hierro.

El proceso de aislamiento de proteínas, sigue generalmente 3 pasos: extracción, precipitación y secado de la proteína precipitada (Liadakis et al., 1995).

Se han realizado estudios de aprovechamiento de subproductos de bovinos como fuentes proteicas, a partir de hígado de res y recortes de bazo, usando el Método Tradicional de Experimentación (Lantero et al., 1996b). De manera similar existe un trabajo de aprovechamiento de proteína muscular adherida a los huesos de vacuno por métodos químicos y enzimáticos (Dondero et al., 1986).

Uno de los métodos más eficientes para optimizar procesos, es el método de superficie de respuesta (RSM) que permite evaluar simultáneamente todas las variables consideradas y tener una precisión comparable a la del método estadístico (Ayala y Pardo, 1995).

El objetivo del presente trabajo de investigación fue determinar los parámetros fisicoquímicos óptimos para maximizar el rendimiento de la extracción alcalina de proteínas de hígado de bovino, aplicando el RSM.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Se utilizaron hígados de bovino provenientes de un mercado local de la ciudad de Lima, los cuales se encontraron en correcto estado de almacenamiento.

Métodos de Análisis

Análisis Físico-Químicos

Humedad, pH, cenizas, extracto etéreo, extracto libre de nitrógeno y determinación de hierro se determinaron por la metodología establecida por la AOAC (1995).

La proteína cruda se determinó a través del método semimicro Kjeldahl, considerando 6.25 como factor de conversión del nitrógeno a proteína. (AOAC, 1995). La proteína soluble se realizó por el método de Biuret descrito por Bornall (1949); citado por Lantero et al. (1996b).

Análisis Estadístico

Se usó la Metodología de Superficie de Respuesta descrita por Cochran y Cox (1990), Montgomery (1991) y Ayala y Pardo (1995).

Metodología Experimental

El presente trabajo de investigación se dividió en tres etapas: extracción alcalina, precipitación ácida y secado, de acuerdo al flujo recomendado por Lantero et al. (1996b).

Extracción Alcalina

Se consideraron las variables mostradas en el Cuadro 1 (Lantero et al., 1996b; Guerrero, 1989; Liadakis et al., 1995 y Rustom et al., 1991).

Se acondicionó la materia prima con la finalidad de hacerla homogénea (lavado y licuado). En esta etapa se realizó un análisis proximal y un análisis de determinación de hierro.

Cuadro 1. Variables y sus niveles en la extracción alcalina para el primer diseño compuesto central

	Variable natural	Niveles de variables codificadas (X _i)				
		- 2	- 1	0	1	2
Relación mp/solvente	1 : x ₁	1:8	1:9	1:10	1:11	1:12
pH	x ₂	9.5	10	10.5	11	11.5
Temperatura (°C)	x ₃	15	20	25	30	35
Tiempo (min)	x ₄	20	30	40	50	60

Posteriormente fue congelada hasta su utilización. Se realizaron las diluciones usando como solvente agua, y adicionando NaOH 0.1 N hasta ajustar al pH requerido. Luego se llevó a un baño maría a la temperatura y tiempo indicados en el Cuadro 1. Después se centrifugó a 2000 rpm por 15 minutos. Posteriormente se determinó el contenido de proteína soluble en el extracto proteico.

Debido al diseño experimental, esta etapa a su vez se dividió en tres etapas:

- **Etapa I: Screening.**- El criterio de optimización usado fue maximizar el rendimiento de proteína (Y). Se usó un diseño factorial (2k) con réplica en el punto central del diseño para dar una estimación promedio del efecto curvatura (Ayala y Pardo, 1995).
- **Etapa II: Escalamiento.**- Mediante la determinación de la curvatura se evaluó si se requiere realizar la etapa de

escalamiento, que consiste en escalar sucesivamente hacia la región óptima, hasta llegar a ubicarla (Pinto, 1995; Ayala y Pardo, 1995).

- **Etapa III: Optimización Final.**- La etapa de optimización se realizó mediante un diseño compuesto central (Montgomery, 1991; Cochran y Cox, 1990; Ayala y Pardo, 1995), que consiste en un diseño factorial 2k, además de puntos axiales (2k) en los ejes de coordenadas a una distancia ($\pm \alpha, 0, 0, 0$), ($0, \pm \alpha, 0, 0$), ($0, 0, 0, \pm \alpha$) del punto central (el valor de α en nuestro caso fue 2), más los puntos replicados en el centro del diseño. Para la estimación del modelo de segundo orden se usó el método matricial. Luego se procedió a realizar un análisis de significancia de los coeficientes, un análisis de varianza del modelo y un análisis de máximos y mínimos con el uso de la matriz Hessiana (Ayala y Pardo, 1995). Para determinar el punto estacionario u óptimo se hicieron cero las derivadas parciales del modelo hallado. El análisis canónico se realizó de acuerdo a lo establecido por Montgomery (1991).

Precipitación Ácida: Se ajustó el pH del extracto alcalino a 4.5 con HCl 0.1N (Lantero et al., 1996b).

Secado por atomización: El coágulo proteico fue neutralizado con NaOH 0.1N y después fue atomizado (Campos, 1985). Una vez realizado el secado, se procedió a hacer un análisis proximal del producto final y un balance de masa de hierro.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Materia Prima

En el Cuadro 2 se muestra el análisis proximal realizado al hígado de bovino. Los valores son similares a los hallados por el Ministerio de Salud (1995) y Osborne y Voogt (1986).

Cuadro 2. Análisis proximal del hígado de bovino

	Porcentaje Prom.(%) (b.h.)	Desviación Estándar
Agua	70.63	0.0198
Proteína	23.42	0.0903
Grasa	4.66	0.8711
Ceniza	1.52	0.0046
Carbohidratos	2.31	0.1282

Extracción alcalina

Etapa I: Screening

Con los resultados se elaboró una matriz de variables independientes en donde se analizaron las interacciones entre variables y el cálculo de efectos (Ayala y Pardo, 1995). En el análisis de varianza, a un nivel de significancia de 0.05 se observó que las cuatro variables afectan el proceso significativamente, al igual que el efecto curvatura, por lo que el modelo lineal no es apropiado para este caso.

Etapa II: Escalamiento

Debido a que el análisis de varianza en la etapa del screening comprobó un efecto curvatura significativo, esta etapa fue obviada (Pinto, 1995).

Etapa III: Optimización

Se consideraron los valores obtenidos en la etapa del Screening y se continuaron con las extracciones para completar la matriz de diseño del Diseño Compuesto Central. Con un nivel de significancia del 99%, el modelo representó adecuadamente a los datos experimentales. Las determinantes H_{ij} de la matriz Hessiana no mostraron signos alternados, por lo que significa que no tiene extremos, y se trataría de un punto silla (Ayala y Pardo, 1995). El punto estacionario se da cuando X1=-0,5198, X2= -0,4569, X3= -0,2138, X4= 0,1877 (escala codificada), obteniéndose un rendimiento de 75.08%.

En base a los resultados anteriores, se consideró un segundo diseño compuesto central. Para ello se realizó una nueva tabla de codificación de variables, considerando como nuevo punto central el punto más alto hallado en el diseño anterior (Cuadro 3).

Cuadro 3. Variables y niveles para el segundo diseño compuesto central

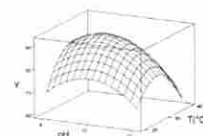
Variable		Niveles de variables codificadas (Xi)				
		-2	-1	0	1	2
Relación m.p./svte	X1	1:9	1:10	1:11	1:12	1:13
pH	X2	9	9.5	10	10.5	11
Temperatura (°C)	X3	20	25	30	35	40
Tiempo (min)	X4	30	40	50	60	70

El modelo matemático para este nuevo diseño en escala codificada fue $Y = 90.53 - 0.63 X1 - 2.24 X2 + 0.20 X3 + 1.21 X4 - 2.63 X1X2 - 2.58 X1X3 + 2.80 X1X4 - 0.85 X2X3 + 6.13 X2X4 + 3.25 X3X4 - 4.38 X12 - 2.32 X22 - 3.19 X32 - 1.74 X42$. Con un nivel de significancia del 99%, el modelo representa adecuadamente a los datos experimentales.

Cuadro 4. Resultados de la evaluación del modelo del segundo diseño compuesto central

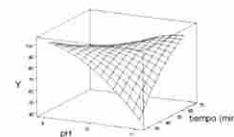
Campo	Suma de Cuadrados	Grados Libertad	Media de Cuadrados	Fcalculado	Ftabular
Residual	163	16	10.2		99%
Error	17.9	6	2.98	4.86	5.39
F.A.	145	10	14.5		

Los determinantes de la matriz Hessiana no mostraron una alternancia, por lo que se trata nuevamente de un punto silla. Con estos resultados el punto estacionario se da cuando X1 = 0.0052, X2 = -0.1397, X3 = 0.1961, X4 = 0.2899 (escala codificada) y reemplazando los valores obtenidos en el modelo matemático codificado, se obtiene un rendimiento de 90.74%. Luego se encontró la forma canónica del modelo hallado, obteniendo la siguiente ecuación: $Y = 90.74 - 7.5563 w12 - 2.8364w w22 - 2.4919 w32 + 1.2507 w42$, comprobándose la diferencia de signos entre los coeficientes debido al punto silla. lo que se podrá apreciar mejor en las gráficas obtenidas con el programa MINITAB (2000). Se halló que en casi todos los gráficos, para todas las combinaciones de pares de factores, las superficies obtenidas son elípticas donde es posible hallar un máximo (Figura 1). Sólo cuando se relacionan las variables pH y tiempo se obtiene un punto silla (Figura 2). Rustom et al.(1991) encontraron un resultado similar, trabajando con extracto proteico de maní, hallando un punto silla cuando relacionaron el pH con el tiempo.



Source: Constatino - Minitab 1111. T(°C) 30.0

Figura 1. Superficie de respuesta del porcentaje de extracción de proteínas de hígado bovino en función a las variables pH (x2) y temperatura (x3)



Source: Constatino - Minitab 1111. T(°C) 30.0

Figura 2. Superficie de respuesta del porcentaje de extracción de proteínas de hígado bovino en función a las variables pH (x2) y tiempo (x4)

El punto óptimo, en escala natural, se da cuando la relación materia prima: solvente es 1: 11,01 (g/mL); pH = 9,93; temperatura = 30,98°C y tiempo = 52,90 minutos. Este punto representa un porcentaje de extracción alto y esta región incluye un rango donde se puede alcanzar mayores rendimientos que cuando no incluíamos la interacción entre variables, como es el caso de Lantero et al. (1996b). La interacción entre variables también es mencionada por Bourgeois y Le Roux (1986). Con los parámetros recomendados por Lantero et al. (1996b) con el método de experimentación tradicional, se obtuvo una extracción de 74,63% muy por debajo a la hallada en la presente investigación, debido a las diferentes condiciones de trabajo. Sin embargo, al utilizar el método de superficie respuesta, se llegó a un 90,73% de extracción, es decir un 16,10% más que con el método tradicional anterior.

Presentación del producto final

El análisis proximal del producto obtenido por atomización se muestra en el Cuadro 6. Los resultados obtenidos muestran un porcentaje relativamente bajo de proteínas para tratarse de un aislado proteico (Bourgeois y Le Roux, 1986). Esto puede deberse al alto contenido de grasa presente (11,63%), también reportados por Lantero et al. (1996b), quienes encontraron 17,20% de grasa y 70,44% de proteína para el precipitado proteico que obtuvieron. El contenido de cenizas se debe principalmente a la presencia minerales, ya que las proteínas (como la ferritina, ferrina y hemosiderina) incluyen en su estructura una considerable cantidad de hierro, (Lantero et al., 1996b).

Cuadro 6. Análisis proximal del aislado proteico

	% (b.h.)	Desviación Estándar
Humedad	4.89	0.0085
Proteína	78.42	0.1122
Grasa	11.63	0.0461
Ceniza	2.32	0.0316
Carbohidratos	2.74	0.1929

Análisis y balance de masa de hierro

Se determinó el contenido de hierro en las diferentes etapas del proceso (Cuadro 7). La materia prima inicial tiene una concentración de 5,23 mg por cada 100 g de materia prima, similar al valor citado por el Ministerio de Salud (1995). Se puede observar que en la extracción alcalina se obtiene un rendimiento del 96% de hierro, pero en la precipitación ácida sólo se recupera el 29,30% con respecto a la etapa anterior. De acuerdo a Barber y Ponz (1998), el hierro se encuentra principalmente en estado ferroso (Fe²⁺) asociado al grupo hemo, no es soluble en medio ácido, pero sí en el neutro o alcalino. En la etapa de extracción el medio es alcalino, por lo que confirmaría la solubilidad del hierro. Sin embargo en la precipitación ácida un 71,88% de hierro del extracto proteico se solubiliza en el sobrenadante de la centrifugación, el cual es medio ácido (pH 4,5). El hierro pudo oxidarse o liberarse del hemo y pasar al estado Fe³⁺, que es más soluble en medios ácidos (Barber y Ponz, 1998). La mayor cantidad de hierro se perdió con la proteína perdida en la etapa de precipitación ácida.

Cuadro 7. Balance de masa de hierro en el proceso de extracción de proteínas de hígado de bovino

Etapas	Hierro (mg)	Porcentaje con respecto al contenido inicial	Concentración (ppm)	Rendimiento del hierro por etapas (%)
Materia Prima (90,90 g)	4,752	100,000	52,277	100,000
Extracción Alcalina (1070,84 g)	4,562	96,002	4,260	96,002
Precipitación Ácida (40,20 g)	1,337	28,125	33,246	29,296
Producto final (12,22 g)	1,337	28,125	109,370	100,000

CONCLUSIONES

Los parámetros fisicoquímicos óptimos para la extracción alcalina de proteínas de hígado de bovino fueron: relación materia prima: solvente 1:11, pH = 9,93, temperatura 31°C y tiempo 53 minutos.

El Método de Superficie de Respuesta (RSM) mejoró el rendimiento en comparación con el Método de Experimentación Tradicional, de 74,63% a 90,73%.

Estadísticamente el pH es la variable más significativa.

Existe mayor pérdida de hierro en la etapa de precipitación ácida, respecto a la etapa de extracción alcalina.

El contenido de hierro en el producto obtenido por atomización, representa un 28,13% respecto a la materia prima inicial, con una concentración de 109,37 ppm de hierro.

BIBLIOGRAFÍA

AOAC. Association Of Official Analytical Chemist (1995). Decimosexta edición. USA.

AYALA, J. y PARDO, R. (1995). Optimización por Diseños Experimentales con Aplicaciones en Ingeniería. CONCYTEC. Perú.

BARBER, A. y PONZ, F. (1998). Principios de Fisiología Animal. Primera Edición. Editorial Síntesis, S.A. España.

BOURGEOIS, C. y LE ROUX, P. (1986). Proteínas Animales: extractos, concentrados y aislados en la alimentación humana. Primera edición. Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V. México.

CAMPOS, D. (1985). Obtención de zumo de sangre de bovinos secado por atomización y evaluación de sus propiedades funcionales. Tesis para optar el grado académico de Ingeniero en Industrias Alimentarias. UNALM. Perú.

COCHRAN, W. y COX, G. (1990). Diseños Experimentales. Segunda edición. Editorial Trillas. México.

GUERRERO, D. (1989). Obtención de un aislado proteico a partir de germen de quinoa (Chenopodium quinoa willd) desgrasado. Tesis para optar el grado académico de Ingeniero en Industrias Alimentarias. UNALM. Perú.

LANTERO, M.; PÉREZ, A.; MARTÍN, I. y VALDÉS, D. (1996a). Calidad proteica de concentrados de órganos bovinos. Simposio Iberoamericano sobre Proteínas para Alimentos. Argentina.

LANTERO, M; PÉREZ, A.; CUELLO, A. y VALDÉS, D. (1996b). Aprovechamiento de subproductos bovinos como fuentes proteicas. Simposio Iberoamericano sobre Proteínas para Alimentos. Argentina.

LIADAKIS, G.; TZIA, C.; OREOPOULOU, V. y THOMOPOULOS, C. (1995). Protein isolation from tomat seed meal, extraction optimization. Journal of Food Science. USA. Volumen 60 N°3.

MINISTERIO DE SALUD, INSTITUTO NACIONAL DE SALUD, CENTRO NACIONAL DE ALIMENTACIÓN Y NUTRICIÓN. (1995). Tablas peruanas de composición de alimentos. Séptima edición. Perú.

MINITAB. (2000). MINITAB User's Guide 1 - 2. USA.

MONTGOMERY, D. (1991). Diseño y Análisis de Experimentos. Grupo Editorial Iberoamérica. México.

OSBORNE, D. y VOOGT, P. (1986). Análisis de los Nutrientes de los Alimentos. Primera edición. Editorial Acribia. España.

PINTO, J. (1995). Aplicación de la metodología de superficie de respuesta en la optimización del proceso de clarificación de jugo de manzana. Tesis para optar el grado académico de Ingeniero en Industrias Alimentarias. UNALM. Perú.

RUSTOM, I.; LÓPEZ-LEIVA, M. y NAIR, B. (1991). Optimization of extraction of peanut proteins with water by response surface methodology. Journal of Food Science. USA. Volumen 56 N°6.

DESARROLLO DE KUMQUAT (*Fortunella margarita* [Lour.] Swing) APPERTIZADO EN ALMÍBAR Y EVALUACIÓN DE SUS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, QUÍMICAS Y SENSORIALES

Razeto P., Claudia y Núñez K., Hugo
UNIVERSIDAD DE CHILE, FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
DEPARTAMENTO DE AGROINDUSTRIA Y ENOLOGÍA
Santa Rosa 11315, La Pintana, SANTIAGO-CHILE
claudiarazeto@gmail.com - hnunez@uchile.cl

Palabras clave: *Fortunella Margarita* [Lour.] Swing, appertizado, escaldado, exhausting, compuestos fenólicos, análisis sensorial.

RESUMEN

El presente trabajo tuvo por objetivo diseñar una línea de flujo para la elaboración de kumquat appertizado y evaluar el efecto de la preparación del fruto y del tratamiento térmico sobre las características físicas, químicas y sensoriales del producto.

Se utilizó frutos de kumquat Nagami (*Fortunella margarita* [Lour.] Swing). Para la elaboración del appertizado se realizaron cuatro tratamientos, donde se combinó la presencia o no de un corte en cruz, realizado en un extremo del fruto y el tratamiento térmico: escaldado o "exhausting". Como medio de empaque se elaboró un almíbar con sacarosa comercial. El appertizado se caracterizó física y químicamente, midiendo fenoles totales y fenoles de bajo peso molecular. Finalmente se realizó un análisis sensorial.

Se observó diferencias significativas entre los tratamientos para el tono de color, siendo este más anaranjado en el tratamiento sin corte y escaldado que en el resto de los tratamientos. Por otro lado, la concentración de sólidos solubles presentó mayores valores en los tratamientos con "exhausting".

La concentración de fenoles totales, medida mediante espectrofotometría a D.O. 280 nm, osciló entre 2,25 a 3,75 gEN kg⁻¹ (equivalente a naringina), sin haber diferencias significativas entre los tratamientos y se observó que el perfil fenólico fue similar entre los tratamientos. Mediante técnicas de individualización por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC-DAD), se identificaron 22 compuestos de bajo peso molecular. La concentración total de ellos fluctuó entre 2,4 y 3,3 mgEN kg⁻¹, sin haber diferencias significativas entre los tratamientos.

Finalmente se concluyó que es posible diseñar una línea de flujo para la elaboración de kumquat appertizado, donde la aplicación de los distintos tratamientos no produce diferencias significativas en la concentración total de compuestos fenólicos. La evaluación sensorial realizada, señala que el kumquat appertizado es aceptado por los evaluadores indistintamente del tratamiento utilizado.

INTRODUCCION

El kumquat, también llamado naranja enana o "golden orange", es un árbol frutal perteneciente a la familia de las Rutáceas (Saunt, 2000; Orias, 1999). Es originario del continente Asiático, siendo China el país de mayor producción y consumo (Orias, 1999). El fruto corresponde a un hesperidio, cuyas principales características son su pequeño tamaño y poseer una piel fina y dulce, lo que permite que se consuma entero (Agustí, 2000; Swain, 1999; Davis y Albrigo, 1994).

Contiene una cantidad interesante de compuestos bioactivos; vitaminas, minerales, compuestos fenólicos, carotenoides y fibra

dieteria, proporcionando grandes beneficios para la salud humana (Rodríguez-Amaya, 1999; Swain, 1999; Vinci *et al.*, 1995).

El kumquat se comercializa en fresco y procesado, siendo los países del Lejano Oriente (China, India, Malasia, Japón, Taiwán y Vietnam) los principales productores, los que concentran más del 90% del volumen de producción mundial. Le siguen Jamaica e Israel (Sánchez y Sierra, 2003; Sánchez y Sierra, 2002).

Otras áreas que presentan un desarrollo emergente del cultivo comercial son algunos países de la Comunidad Europea y los estados norteamericanos de Florida y California (Sánchez y Sierra, 2003). En Sudamérica, sólo se ha detectado que existe oferta de kumquat al estado fresco desde Uruguay y Argentina. En Chile no se reporta la existencia como cultivo frutal (Sánchez y Sierra, 2003).

Los principales consumidores son China, Tailandia, Vietnam, EEUU y Europa. En relación a su precio, en los mercados internacionales fluctúa entre US\$ 1,50/kg y US\$ 6/kg como producto fresco y de US\$ 4/kg y US\$ 8/kg como producto procesado. El precio varía de acuerdo al país de origen, volumen ofrecido, calidad y época de oferta (Sánchez y Sierra, 2003; Sánchez y Sierra, 2002).

Entre las alternativas conocidas de procesamiento de este fruto, se encuentra la elaboración de deshidratados, mermeladas, conservas, jarabes, salsas y bebidas alcohólicas. Entre estos productos, el appertizado parece la opción más interesante, pues se ha comprobado su bondad en numerosas frutas. Sin embargo, no se encontró información técnica o científica sobre su empleo en kumquat.

Es así como surge la idea, en la presente investigación, de someter el fruto de kumquat al proceso de appertizado, lo que permitiría obtener un producto atractivo, inocuo y de alta calidad, que ayudaría a diversificar los compuestos nutricionales en la dieta de los consumidores.

Por lo anteriormente expuesto, el presente trabajo tuvo por objetivo diseñar una línea de flujo para la elaboración de kumquat appertizado y evaluar el efecto de la preparación del fruto y del tratamiento térmico, sobre las características físicas, químicas y sensoriales del producto appertizado.

MATERIALES Y METODO

Para la elaboración del appertizado se utilizaron frutos de kumquat Nagami, provenientes de un huerto ubicado en la localidad La Aurora, perteneciente a la comuna de Curacavi, Región Metropolitana, Chile.

Como medio de empaque se utilizó un almíbar preparado con sacarosa comercial.

El proceso se inició con la selección de la fruta y su lavado en agua. Posteriormente, se procedió a la preparación de los frutos; a una parte de éstos se le realizaron cortes en cruz (Cc), con cuchillo, en el extremo distal del fruto y se dejó la otra fracción de frutos sin cortes (Sc). Un tratamiento consistió en escaldar (Es) una parte de los frutos con cortes y una parte de los sin cortes, a 100 °C, durante tres minutos. Paralelamente, el medio de empaque se preparó usando sacarosa comercial con una concentración de 35 % p/v, para obtener al "cut-out" una concentración de sólidos solubles de 22 °Brix.

El otro tratamiento consistió en reemplazar el escaldado por un "exhausting" (Ex) mediante vapor de agua saturado, con una duración de 10 minutos. Éste se realizó una vez que los envases con la fruta, con y sin cortes, respectivamente, fueron llenados con el medio de empaque en caliente (80 °C). La esterilización comercial se realizó durante un tiempo de 20 minutos en agua a 100 °C. Luego se almacenó durante tres semanas, hasta alcanzar el "cut-out".

Posterior al "cut-out", a los frutos del producto terminado se le realizaron los análisis color de la piel del fruto, realizándose dos medidas en la zona ecuatorial de cada uno de los frutos, usando un colorímetro marca Minolta CR-200b, midiendo los parámetros L*, a* y b* y se calculó C' y H' según McGuire (1992); resistencia a la presión (firmeza) con un equipo electrónico automatizado marca Firmtech 2, Bioworks Inc., Oklahoma, USA. A los frutos y a la mezcla homogeneizada de frutos y medio de empaque (en la proporción correspondiente a cada envase), por separado, se les realizó los análisis de sólidos solubles (refractómetro marca Atago); pH y acidez por titulación con un pH-metro Fisher Accumed mod. 210 (A.O.A.C., 1984).

Las mediciones de compuestos fenólicos, se realizaron a una mezcla homogeneizada de frutos y medio de empaque, en la proporción correspondiente a cada envase, determinando fenoles totales mediante análisis espectrofotométrico a D.O. 280 nm (García-Barceló, 1990) y fenoles de bajo peso molecular, para cada muestra, se determinó mediante técnicas de individualización por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC-DAD) (Peña *et al.*, 1999). Se utilizó el método modificado de extracción propuesto por Peña (1998).

Los distintos tratamientos se evaluaron sensorialmente, determinándose la aceptabilidad por el método de la Escala Hedónica, mediante una pauta no estructurada de 0 a 15 centímetros, donde 0 corresponde a "me disgusta mucho" y 15 corresponde a "me agrada mucho", con un panel compuesto por 24 evaluadores, 12 de ellos entrenados y 12 no entrenados. Además, se evaluó la calidad sensorial del producto terminado mediante el método descriptivo, siendo efectuada por 12 evaluadores entrenados, quienes calificaron, con una pauta no estructurada de 0 a 15 centímetros, donde 0 representa la ausencia o baja intensidad y 15 la máxima intensidad, los atributos de apariencia, textura y sabor y sus respectivos parámetros: color, aroma, dulzor, gusto ácido, amargor y firmeza.

Para el ensayo se utilizó un diseño de tres bloques aleatorios, con cuatro tratamientos, que corresponde a frutos sin cortes y con escaldado (ScEs), frutos sin cortes y con "exhausting" (ScEx), frutos con cortes y escaldado (CcEs) y frutos con cortes y "exhausting" (CcEx). La unidad experimental correspondió a un envase de vidrio de 500 mL de capacidad. Los resultados se analizaron mediante Análisis de Varianza y si hubo diferencias significativas se utilizó la prueba de rango múltiple de Duncan.

RESULTADOS

Análisis físicos

En el fruto appertizado, los parámetros de color (Cuadro 1) fueron similares en todos los tratamientos, presentando valores de a* y b*, que indican aportes de colores rojo y amarillo, respectivamente. En cuanto al tono (H*), sólo hubo diferencias

significativas para el tratamiento ScEs, el que obtuvo un menor valor (73,5), que se interpreta como un color más anaranjado. Esto se debería a la menor pérdida de carotenoides causada, tanto por la ausencia de corte, como por el menor tiempo de tratamiento térmico al cual fue sometido el fruto. En cuanto a la firmeza del fruto appertizado, no hubo diferencias significativas entre los tratamientos (promedio 68,95 gF mm⁻¹).

Cuadro 1. Características físicas del fruto de kumquat appertizado, según el tratamiento.

Característica	ScEs	ScEx	CcEs	CcEx
Color				
L*	49,08 a	47,54 a	50,55 a	49,45 a
a*	11,90 a	10,22 a	9,96 a	9,73 a
b*	39,97 a	40,61 a	40,90 a	40,53 a
C*	41,70 a	41,90 a	42,10 a	41,70 a
H*	73,48 b	75,81 a	76,32 a	76,50 a
Firmeza (gF mm ⁻¹)	73,91 a	68,55 a	68,03 a	65,31 a

Letra distinta en la fila indican diferencias significativas entre los tratamientos (p<0,05).

ScEs: Frutos sin corte y con escaldado.

ScEx: Frutos sin corte y con exhausting.

CcEs: Frutos con corte y escaldado

CcEx: Frutos con corte y exhausting.

Análisis químicos

En la caracterización química del appertizado de kumquat, sólo se observaron diferencias significativas en sólidos solubles (Cuadro 2).

Cuadro 2. Características químicas del appertizado de kumquat, según el tratamiento.

Característica	ScEs	ScEx	CcEs	CcEx
Sólidos Solubles (° Brix)				
Fruto triturado	20,41 b	20,58 b	19,85 b	22,34 a
Mezcla	20,98 b	22,00 a	19,88 c	22,34 a
Medio empaque	20,95 b	23,08 a	19,92 b	22,57 a
pH				
Fruto triturado	2,93 a	3,08 a	3,02 a	3,07 a
Mezcla	2,97 a	3,10 a	3,17 a	3,10 a
Acidez (% ácido cítrico)				
Fruto triturado	0,72 a	0,70 a	0,62 a	0,68 a
Mezcla	0,70 a	0,67 a	0,69 a	0,63 a

Letra distinta en la fila indican diferencias significativas entre los tratamientos (p<0,05).

ScEs: Frutos sin corte y con escaldado.

ScEx: Frutos sin corte y con exhausting.

CcEs: Frutos con corte y escaldado

CcEx: Frutos con corte y exhausting.

Para el caso de la mezcla de fruto con medio de empaque, se obtuvo un menor valor en el tratamiento CcEs (19,88 °Brix), lo que se explicaría por el hecho que en los frutos escaldados, el agua con que los frutos fueron tratados térmicamente fue desechada, arrastrando consigo una cierta cantidad de sólidos solubles, pérdida que se vio acentuada por el efecto del corte. En el caso de la medición en frutos triturados (sin medio de empaque), el tratamiento CcEx obtuvo el mayor valor (22,34 °Brix), debido a que no presentó las pérdidas de los

tratamientos con escaldado y también a que el corte del fruto ayudó a que la homogeneización entre el medio de empaque y el fruto fuera más rápida. Este proceso de homogeneización fue más lento en el tratamiento ScEx, por lo cual el valor de sólidos solubles medido fue menor (20,58 °Brix), no existiendo diferencias significativas con los tratamientos escaldados.

Fenoles totales

La concentración promedio de fenoles totales en el producto appertizado osciló entre 2,25 gEN kg⁻¹ para el tratamiento CcEx y 3,75 gEN kg⁻¹ para el tratamiento ScEs, sin existir diferencias significativas entre ellos.

Compuestos fenólicos de bajo peso molecular

En los cuatro tratamientos se identificaron 22 compuestos, como se aprecia en la Figura 1, los cuales corresponden principalmente a ácidos fenólicos y a flavonoides, en su mayoría flavonas. Dentro de éstas, se pudo identificar la diosmina (compuesto 22). También se identificaron las flavanonas naringina glicosido (23), naringina (24) y naringenina (29).

Todos los tratamientos presentaron un perfil fenólico similar entre ellos, existiendo diferencias significativas sólo para la concentración de tres de los compuestos identificados, correspondientes a flavonas (compuestos 8 y 16) y flavonol (compuesto 19). La concentración total de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular osciló entre 2,40 mgEN kg⁻¹, para el tratamiento CcEx y 3,29 mgEN kg⁻¹, para el tratamiento ScEx, sin que las diferencias fueran significativas entre los tratamientos.

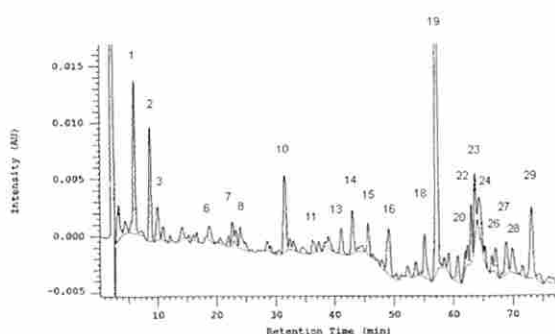


Figura 1. Cromatograma por HPLC del appertizado de kumquat, correspondiente al tratamiento ScEs

Análisis sensorial

En la evaluación de la calidad sensorial las diferencias encontradas no fueron significativas, lo que indica que los cuatro productos appertizados son bastante similares, excepto para el parámetro Firmeza, que presentó diferencias significativas entre los tratamientos, donde el tratamiento ScEs presentó el menor valor (7,9). El producto fue calificado con una alta apariencia (10,8), textura (10,0), sabor (9,0) y aroma (8,9); en cambio el color (8,2), amargor (7,6), dulzor (7,3) y acidez (6,6) fueron evaluados en el rango de intensidad normal o media.

En cuanto a la aceptabilidad, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. Los valores oscilaron entre 9,6 (tratamiento ScEs) y 10,8 (tratamiento CcEs), lo que se traduce en que el appertizado de kumquat obtuvo una buena aceptación.

CONCLUSIONES

Es posible diseñar una línea de flujo para la elaboración de kumquat appertizado, donde la aplicación de los distintos tratamientos no produce diferencias significativas en la concentración total de compuestos fenólicos y que los perfiles fenólicos de cada tratamiento del appertizado son similares entre sí. Por otro lado, la evaluación sensorial realizada, señala que el kumquat appertizado es aceptado por los evaluadores indistintamente del tratamiento utilizado.

LITERATURA CITADA

- Agustí, M. 2000. Citricultura. Ediciones Mundi-Prensa, España. 416 p.
- A.O.A.C. 1984. Official methods of analysis of official agricultural chemists. Washington, D. C. 13ª ed. 1018 p.
- Davis, F. and L. Albrigo. 1994. Citrus. CAB International, Oxon, England. 254 p.
- García-Barceló, J. 1990. Técnicas analíticas para el vino. Ediciones FAB. Barcelona, España. 1710 p.
- McGuire, R. 1992. Reporting of Objective Color Measurements. HortScience 27(12):1254-1255.
- Orlas, G. 1999. Prospección de nuevas especies a ser cultivadas en la zona central del país. Tesis Ing. Agr. Universidad Católica de Valparaíso, Facultad de Cs. Agrarias. Quillota, Chile. 146 p.
- Peña, A. 1998. Contribución al conocimiento del origen de problemas sensoriales en vinos. Su relación con los compuestos fenólicos y la presencia de compuestos organoclorados. Tesis Dr. Ing. Agrónomo, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Universidad Politécnica de Madrid. Madrid, España. 345 p.
- Peña, A., T. Hernández, M. García-Vallejos, E. Cadahía, S. Fernández and J. Suárez. 1999. Low molecular weight phenolic compounds in cork stoppers. American Journal of Enology Viticulture 50(2):283-290.
- Rodríguez-Amaya, D. 1999. Carotenoides y preparación de alimentos: la retención de los carotenoides provitamina A en alimentos preparados, procesados y almacenados. Office of Health and Nutrition, Bureau for Global Programs, Field Support and Research, U.S. Agency for International Development. 99 p.
- Sánchez, A. y H. Sierra. 2002. Validación de nuevas alternativas hortofrutícolas para la I región. Fundación Chile. 145 p.
- Sánchez, A. y H. Sierra. 2003. Nuevas opciones agrícolas para la Primera Región. Agroecológico (73):32-35.
- Saunt, J. 2000. Citrus varieties. Sinclair International Limited, Norwich, England, 156 p.
- Swain, R. 1999. Kumquats. Horticulture 96(1):70-75.
- Vinci, G., F. Botre, G. Mele and G. Ruggieri. 1995. Ascorbic acid in exotic fruits: a liquid chromatographic investigation. Food Chemistry (53)2:211-214.

PROCESSO DE SECAGEM DO BAGAÇO DE GOIABA E CAJU PARA DESENVOLVIMENTO DE PRODUTO: ESTUDO COMPARATIVO ENTRE OS MODELOS EXPERIMENTAL E TEÓRICO BASEADO NA 2ª LEI DE FICK

Oliveira, Edson Leandro; Matias, Maria de Fátima de Oliveira ; Magalhães, Margarida Maria dos Anjos e Oliveira, Antônia Beatriz Viana
 UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
 DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
 PPGEQ-CT-CAMPUS UNIVERSITÁRIO s/n - CEP: 59.072-970 . Telefone: (084)215-37690
 Edson. email: ledson@eq.ufrn.br
 NATAL-BRASIL

Palavras-chave : bagaço de frutas, secagem, secador, leito fixo, modelagem, difusividade.

RESUMO

O modelo difusional simples modificado, modelo de Page, e o modelo teórico difusional baseado na 2ª Lei de Fick, foram aplicados para descrever o comportamento cinético da secagem dos bagaços de goiaba (*psidium guayava*) e caju (*anacardium occidentale*), durante o processo de secagem em secador de leito fixo. O efeito da temperatura sobre a velocidade de secagem pôde ser comprovado através de experimentos nos quais variou-se apenas a temperatura. Os resultados obtidos mostraram que as curvas de secagem tanto do bagaço de goiaba quanto de caju apresentaram-se de forma similar onde provavelmente ocorreu somente o período de taxa decrescente. A aplicação dos dados experimentais obtidos nos modelos utilizados permitiu a definição dos coeficientes de difusividade efetiva, para o modelo difusional e a determinação dos parâmetros de secagem, "k" e "n", do modelo empírico de Page. Ambos os modelos descreveram satisfatoriamente o comportamento dos dados experimentais com R² superior a 0,99.

INTRODUÇÃO

Tendo em vista o uso da secagem de alimentos visando o fator econômico e a qualidade do produto, hoje a pesquisa experimental é cada vez importante todo mundo. Vários trabalhos experimentais têm demonstrado a importância da secagem na conservação de alimentos com os mais variados sistemas. Diversos mecanismos físicos foram propostos (BROOKER et al, 1974; FORTES e OKOS, 1980) para descrever a transferência de umidade nos produtos porosos entre os quais se destacam: movimento de líquido devido às forças superficiais (difusão capilar); movimento de líquido devido à diferença na concentração de umidade (difusão líquida); movimento de líquido devido à difusão da umidade na superfície dos poros (difusão de superfície); movimento de vapor devido à diferença de concentração de vapor (difusão de vapor); movimento de vapor devido à diferença de temperatura (difusão térmica); movimento da água e de vapor devido à diferença de pressão total (fluxo hidrodinâmico). No entanto, a simulação de modelos para descrever a cinética da secagem pode, também, ser usada para projetar novos modelos ou para o controle da implementação dos sistemas já existentes, como tem sido mostrado por Karathanos e Belessiotis (1999). Vários modelos empíricos tem sido estudados para descrever processos de secagem, o modelo de Page é bastante usado para simular dados de secagem de frutas (Karathanos e Belessiotis, 1999; Dandamrongrak et al, 2002), e cereais (Correia et al, 2001; Iguaz et al. 2002). Este descreve satisfatoriamente a secagem no período de taxa decrescente para materiais com alto teor de umidade.

O modelo desenvolvido por Page (1949) é uma modificação empírica do modelo exponencial simples, e este é uma simplificação da Equação 1, desenvolvida para casos onde o mecanismo predominante é o difusional.

$$U^* = \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp\left[-(2n+1)^2 \frac{\pi^2 D_{ef} t}{L^2}\right] \quad (1)$$

Onde $8/\pi^2$ é o fator de forma para placa plana (CRANK, 1975), D_{ef} = difusividade efetiva do líquido no sólido (m²/s), U = umidade do sólido (kg de água /kg de sólido seco). Para tempo

de secagem muito longo, a Equação 1 pode ser aproximada para o primeiro termo da serie (n = 0) e esta pode ser escrita na seguinte forma:

$$\frac{U - U_e}{U_0 - U_e} = \frac{8}{\pi^2} \exp[-kt] \quad (2)$$

Onde a constante de velocidade (k) é definida por:

$$k = \frac{D_{ef} \pi^2}{L^2}$$

Page (1949) propôs uma modificação no modelo exponencial introduzindo um coeficiente para correção do tempo. Este modelo tem sido bastante utilizado para secagem em camadas finas.

$$\frac{U - U_e}{U_0 - U_e} = \exp(-kt^n) \quad (3)$$

Onde:

U, umidade em função do tempo t;

U_e, umidade de equilíbrio;

U₀ umidade de inicial do material;

K, constante de secagem;

N, parâmetro de correção temporal, adimensional.

Este modelo tem sido aplicado na secagem de frutas e em outros materiais sólidos com resultados bastante satisfatórios.

MATERIAIS E MÉTODOS

A matéria prima utilizada, neste trabalho, foi o bagaço de goiaba e caju proveniente da indústria de processamento de polpas de frutas. Esse material ao chegar no laboratório é colocado em freezer à temperatura de -18°C e para sua utilização, o mesmo, é descongelado à temperatura ambiente por 12 horas.

Os ensaios de secagem, em leito fixo, foram realizados no secador de bandejas conforme mostra a Figura 1. O secador consiste de cabine vertical com porta para carga e descarga de material, soprador, válvula para controle da vazão, caixa de resistências elétrica, termostato, válvula de passagem, e um painel para controle de temperatura. A temperatura de trabalho é controlada por termostato, a velocidade e a umidade relativa do ar ambiente e de saída no secador são medidas por anemômetro e termohigrômetro, respectivamente. O material úmido foi colocado em bandejas (20 x 20 cm) com malha de aço inox que permite a circulação do ar no material exposto. A massa foi monitorada através de pesagem, com balança semi-analítica, em intervalos de 30 minutos.

Procedimento Experimental da Secagem

As condições de operação da secagem, tanto com o bagaço de caju quanto com a goiaba, foram realizados: temperatura 55°C e 65°C; espessura da torta de 1cm e velocidade do ar de secagem de 3,0m/s. Os bagaços *in natura* previamente descongelado, foram colocados no secador em regime quase-estacionário de temperatura e velocidade do ar. As bandejas foram retiradas do secador a cada 30 min para pesagem e depois recolocadas, este procedimento foi repetido até que o material atingisse peso constante. O produto processado foi triturado, acondicionados em embalagens e posteriormente, realizadas as análises físico-químicas e microbiológicas.

Modelagem Matemática

A equação difusional simples modificada, ou seja, equação de Page, foi aplicada para descrever o comportamento cinético da

secagem de bagaços de frutas, goiaba e caju, durante o processo. A variação da umidade do material em função do tempo de secagem foram graficados em diagrama $\ln(-\ln Ru)$ versus $\ln(t)$, obtendo-se uma reta onde a inclinação define o parâmetro "n" e o intercepto, no eixo vertical, define o parâmetro "k".

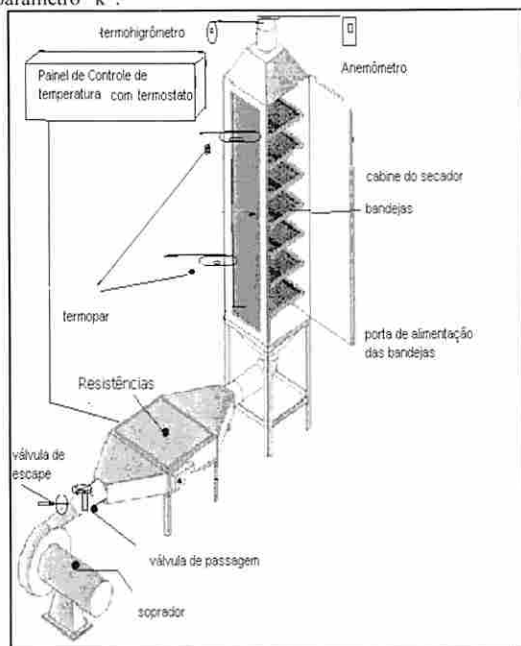


Figura 1 – Secador de bandejas

RESULTADOS

Os resultados dos parâmetros de secagem "n" e "k" para os ensaios de bagaços de goiaba (*Psidium guayava*) e caju (*Anacardium occidentale*) estão relacionados na Tabela 1.

Tabela 1 Constantes da equação de Page para secagem de bagaços de frutas

Ensaio	Temperatura °C	R ²	k (min ⁻¹)	n
Goiaba 1	55	0,9988	3,9093E-03	1,1430
Goiaba 2	65	0,9992	3,486E-03	1,2166
Caju 1	55	0,9988	1,286E-02	1,0532
Caju 2	65	0,9989	7,7924E-03	1,1291

No modelo de Page, a constante de secagem k, para os bagaços de goiaba e caju, diminui com o aumento da temperatura. Então, pode-se afirmar que os efeitos difusionais com este modelo são mais sensíveis do que com o modelo difusional simplificado da Equação 2. E o parâmetro temporal n (variou de 1,1430 a 1,2166 para o bagaço de goiaba e de 1,0532 a 1,1291 para o bagaço de caju) aumentou com o a temperatura. Os valores encontrados para o coeficiente de correlação (R²) foram superiores 0,99 o que denota valores bastante satisfatórios para estes modelos. As figuras 2, 3, 4 e 5 descrevem o comportamento dos modelos experimental, difusional simples (teórico) e de Page, graficados como a razão de umidade em função de tempo para os resultados médios experimentais de secagem obtidos para o bagaço de goiaba (*Psidium guayava*) e caju (*Anacardium occidentale*) às temperaturas de 55 e 65° C.

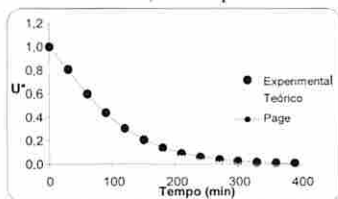


Figura 2 - Comparação do modelo empírico com o difusional simples para o bagaço de goiaba (*Psidium guayava*) para T = 55° C.

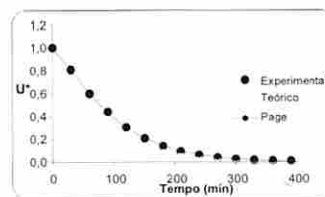


Figura 3 - Comparação do modelo empírico com o difusional simples para o bagaço de goiaba (*Psidium guayava*) para T = 65° C.

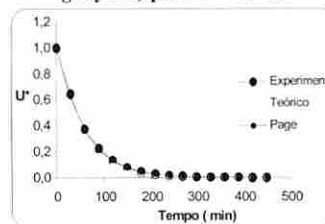


Figura 4 - Comparação do modelo empírico com o difusional simples para o bagaço de caju (*Anacardium occidentale*) para T = 55° C

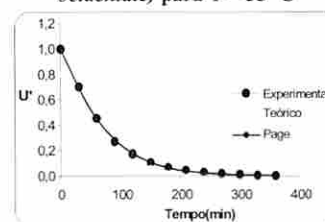


Figura 5. Comparação do modelo empírico com o difusional simples para o bagaço de caju (*Anacardium occidentale*) para T = 65° C.

Verifica-se nas figuras 2, 3, 4, e 5 nas temperaturas de 55 e 65°C, que o modelo de Page se comportou melhor do que o difusional simplificado, isto justifica-se devido a sensibilidade dos efeitos difusionais interno com os materiais usados.

CONCLUSÕES

Em relação às condições operacionais na qual se variou somente temperatura, verificou-se que o bagaço de caju praticamente atinge a umidade de equilíbrio a partir de 250 min., enquanto o bagaço de goiaba só começa a alcançar a partir de 400 min de operação. As curvas de secagem tanto de bagaço de goiaba quanto de caju apresentaram-se de forma similar.

O modelo teórico difusional, baseado na 2ª lei de Fick e o modelo empírico de Page descreveram satisfatoriamente o comportamento dos dados experimentais com R² superior a 0,99.

Os coeficientes médios de difusão (D_{ef} em m²/s), para temperatura de 55° C, de 1,6211.10⁻⁹ e 2,9890.10⁻⁹ e para temperatura 65°C, de 2,1277.10⁻⁹ e 2,8539.10⁻⁹ para goiaba e caju respectivamente.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química – PPGEQ – DEQ – UFRN – Natal RN.

BIBLIOGRAFIA E REFERÊNCIAS

-BROOKER, D.B.; BAKKER-ARKEMA, F.W.E. HALL, C. W. 1974. "Drying cereal grains Connecticut" the Avi Publishing Company, p.262.
 -CORRÊA, P. C.M.; FONTES, P.; TAVARES, E. 2001 "Cinética de secagem e qualidade de grão de milho-pipoca". Ciência Agropecuária, Lavras, v.25, p. 134-142.
 -DANDAMRONGRAK, R. Y. G. e MARSON, R. 2002. "Evaluation of various pre-treatments for the dehydration of banana and selection of suitable drying models". Journal of Food Engineering, v.55, p: 139-146.
 -FORTES, M.; OKOS, M. 1980. "Drying theories: their bases and limitations as applied to food and grains", In: Mujundar, A. S. Advances in drying: Washington: Hemisphere, v. 1, p:119-154.
 -KARATHANOS, V.T. e BELESSIOTIS, V.G. 1999. "Aplicação of a thin-layer equation to drying data of fresh and semi-dried fruits". Journal Agriculture Engng Reserh, v. 74, p:355-361.
 -IGUAZ, A., MARTÍN, M.B. SAM, M.J.I. FERNÁNDEZ, E.VISED.A.P. 2003. "Modeling effective moisture diffusivity of rough rice (Lido cultivars) at low drying temperatures". Technologic aliment's, Journal of Food Engineering, Pamplona, Spain, v. 59, p: 253-258.
 -CRANK, J. 1975. "The Mathematics of Diffusion". Second edition. Published in the United States by Oxford University Press, New York .

EFFECTO DEL NaCl EN SOLUCIONES COMBINADAS DE SACAROSA SOBRE LAS PERDIDAS DE AGUA Y GANANCIA DE SOLUTOS DE PLÁTANO (*Musa paradisiaca* L Var. Dominico Hartón) DESHIDRATADO OSMOTICAMENTE

Ayala -Aponte, Alfredo*; Torres Valenzuela, Laura; Tabarquino Rivera; Paola y Diaz Ortiz, Alberto

UNIVERSIDAD DEL VALLE
ESCUELA DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS
*alfayala@univalle.edu.co
CALI-COLOMBIA

Palabras clave: Procesamiento, Deshidratación osmótica, NaCl, Sacarosa, plátano

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del NaCl en soluciones combinadas con sacarosa sobre las pérdida de agua (WL) y ganancia de sólidos solubles (SG) en la deshidratación osmótica del plátano (*Musa Paradisiaca* L. var. Dominico Harton) en estado de madurez verde. La deshidratación osmótica se llevó a cabo con soluciones de sacarosa comercial a 45 °Brix con adición de sal comercial a 1.4, 2.0 y 2.6%, a 30 °C, como tratamiento control se empleó una solución osmótica de sacarosa a 45 °Brix sin adición de sal. La solución se agitó a 240 rpm. La relación fruta – solución fue 1:30 y el tiempo de proceso fue de 300 minutos. Los datos experimentales se analizaron por medio de ANOVAS para tiempos de 30 y 300 minutos con el programa estadístico SPSS 11. Se presentó una diferencia significativa en la WL entre el tratamiento control y los tratamientos con adición de NaCl (1.4, 2.0 y 2.6%). Entre los tratamientos con adición de sal no hubo un efecto significativo del NaCl sobre las WL, alcanzando al final del proceso valores similares de WL del 30 %. La SG no presentó diferencias significativas en los tratamientos con y sin adición de NaCl, alcanzando valores similares de 39 %.

INTRODUCCION

La deshidratación osmótica (DO) consiste en la remoción de agua de un producto que se sumerge en una solución hipertónica a un tiempo y temperatura específicos. Esta remoción se debe a la fuerza impulsora que se crea por la alta presión osmótica (o baja actividad de agua) de la solución o por el gradiente de concentración entre la solución y el sólido (Rastogi y Raghavarao, 1996). Se han propuesto otros nombres para este proceso tales como deshidratación impulsada por diferencias de concentración o deshidratación e impregnación por inmersión (Spiazzi y Mascheroni, 1997). La DO es un proceso de contra-difusión simultáneo de agua y solutos (Saputra, 2001) donde ocurren tres tipos de transferencia de masa en contracorriente: flujo de agua del producto a la solución, transferencia de soluto de la solución al producto y salida de solutos del producto hacia la solución (azúcares, ácidos orgánicos, minerales y vitaminas que forman parte del sabor, el color y el olor) (Sablani y Rahman, 2003; van Nieuwenhuijzen et al., 2001).

La selección del soluto o solutos para la deshidratación osmótica depende de varios factores como la solubilidad, los costos y su efecto en las propiedades de calidad organoléptica (Qi, Le, et al., 1998). Los solutos de azúcar y sales son muy utilizados para procesos de deshidratación por inmersión (DO), especialmente la sacarosa y el cloruro de sodio (Lenart y Flink, 1984; Ponting, 1973). En la DO, la aplicación combinada de sacarosa y cloruro de sodio se ha aplicado a algunos productos de consumo masivo como la papa (Gupta et al., 2000; Krokida, et al., 2000, 2001) y la remolacha (Jokic, et al., 2007) obteniéndose reducciones significativas de contenido de humedad; sin embargo, las cinéticas de transferencia de masa (WL y SG) en plátano deshidratado osmóticamente no se han estudiado en detalle.

El plátano es una planta herbácea de gran tamaño, provista de una raíz perenne, o rizoma, a partir de la cual se perpetúa por medio de brotes. Es originario del Sureste asiático, pero se cultiva en los países tropicales por sus frutos, fibras y hojas. El plátano Dominico-Hartón es la variedad más cultivada en la

región Andina Colombiana, y se mercadea tanto para mercado en fresco como procesado dado a que es un producto de gran consumo (Arcila et al, 2002).

Por lo anterior en este trabajo se estudió el efecto combinado de los solutos de NaCl y sacarosa sobre de pérdida de agua (WL) y ganancia de sólidos solubles (SG) en la deshidratación osmótica del plátano Dominico Harton en estado de madurez verde.

MATERIALES Y METODOS

Preparación de las muestras

Se utilizaron plátanos variedad Dominico Hartón Común (Triplóide AAB, *Musa Paradisiaca* Simmonds) proporcionados por un supermercado especializado de la ciudad de Cali (Colombia). Los frutos se seleccionaron en estado de madurez verde con un promedio de contenido de sólidos solubles de 10 °Brix y de contenido de humedad 59.06 %. Los frutos se almacenaron en cámara ambiental (marca HotPack 175 series) de temperatura controlada (13 ± 1 °C) y humedad relativa de 90% previo a la experimentación. Los plátanos se lavaron, se pelaron y se cortaron en cilindros de 20 mm de diámetro y 2 mm de espesor. Los cilindros de plátano, previo a la DO, fueron sumergidos en una solución isotónica de sacarosa con adición de 0.2 gramos de ácido cítrico durante 15 minutos para evitar el pardeamiento y la oxidación enzimática (Díaz, et al 1996).

Deshidratación Osmótica

Se prepararon 4 soluciones osmóticas (SO) a 30 °C con un volumen de 3.0 L y una relación fruta - solución de 1:30. Una solución se preparó con sacarosa comercial en agua destilada a 45 °Brix, tomada como tratamiento control (sacarosa + 0% NaCl) y las tres soluciones restantes se prepararon combinando sacarosa a 45 °Brix y NaCl refinada comercial en concentraciones de 1.4, 2.0 y 2.6 %.

Las Soluciones osmóticas se agitaron a 240 rpm mediante un agitador mecánico (marca Kika LaborTechnik Pol Co) para evitar el efecto de encostamiento del azúcar en la superficie de las muestras y acelerar el proceso de deshidratación. Las cinéticas de pérdida de agua (WL) y ganancia de sólidos solubles (SG) se evaluaron tomando muestras a diferentes tiempos de deshidratación de 0, 5, 10, 15, 30, 60, 120, 180 y 300 minutos. Una vez se extrajeron las muestras de la SO se enjuagaron en agua destilada para eliminar la solución de la superficie y se secaron con papel absorbente. Las muestras se pesaron antes y después de la deshidratación mediante una balanza analítica Metler (modelo AE200) de sensibilidad 0.001 g. Posteriormente se determinaron los sólidos solubles usando un refractómetro (ABBE ATAGO 1T de Zeiss, termostataado a 20°C) con una precisión de $\pm 0,5$ °Brix y el contenido de humedad se determinó mediante el método AOAC (1980), n.20.013.

Cálculos

Las cinéticas de deshidratación osmótica WL y SG se calcularon mediante las ecuaciones (1) y (2), que se obtuvieron a partir de un balance de masa (Beristain et al., 1990):

$$WL = \frac{M_1 + X_{w,1} - M_0 + X_{w,0}}{M_0} \quad (1)$$

$$SG = \frac{M_1 + X_{s,1} - M_0 + X_{s,0}}{M_0} \quad (2)$$

donde:

M_0 : peso inicial de la muestra (g)

M_t : peso de la muestra a un tiempo t de tratamiento (g)

$X_{w,0}$: fracción de agua inicial de la muestra

$X_{w,t}$: fracción de agua a un tiempo t de tratamiento

$X_{s,0}$: fracción de sólidos solubles iniciales de la muestra

$X_{s,t}$: fracción de sólidos solubles a un tiempo t de tratamiento

Diseño de experimentos y Análisis estadístico

Se realizó un diseño de un solo factor (concentración de sal) con 3 niveles (1.4, 2.0 y 2.6 %) y un tratamiento control sin adición de NaCl (sacarosa + 0% sal). Se realizaron 4 tratamientos con tres repeticiones por tratamiento. Las variables respuesta WL y SG se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) en los tiempos de deshidratación de 30 y 300 minutos, teniendo en cuenta que en el primer tiempo las cinéticas de deshidratación son más rápidas y en el segundo se aproxima al equilibrio o pseudoequilibrio del proceso. Para el análisis de estas variables se uso el programa estadístico SPSS 11.

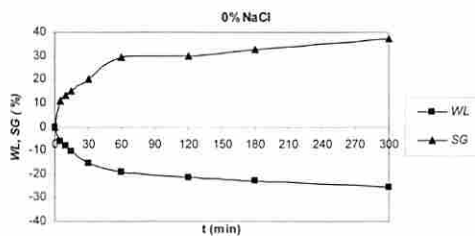
RESULTADOS Y DISCUSION

En la figura 1 se muestra el comportamiento de la pérdida de agua (WL) y ganancia de sólidos (SG) frente al tiempo de proceso para cada tratamiento osmótico.

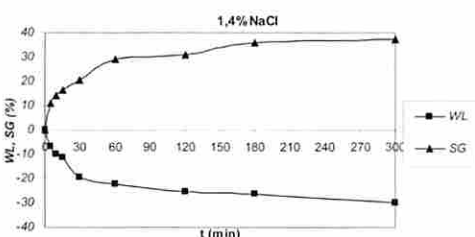
Se observa que para todos los tiempos de proceso los tratamientos de sacarosa con adición de NaCl (1.4, 2.0 y 2.6%) presentaron mayores WL que el tratamiento control (sacarosa + 0% de NaCl); sin embargo, las diferencias entre los tratamientos a los cuales se les adicionó sal no fueron estadísticamente significativas para la variable WL, presentando un $p > 0.05$ tanto para 30 y 300 minutos. La WL a 300 minutos para los tratamientos con adición de NaCl alcanzaron valores cercanos de 30 % y el tratamiento control alcanzó 25.56 %.

Estos resultados son similares a los obtenidos por Sereno et al., (2001) en manzana y Jokic, et al., (2007) en remolacha, quienes encontraron que la adición de sal a las soluciones de sacarosa, aumentan la WL comparado con los tratamientos de sacarosa. Los autores citados encontraron diferencias estadísticamente significativas en WL a diferentes concentraciones de sal, esto difiere de los resultados presentados en éste trabajo. Lo anterior se debe posiblemente a que los rangos de concentración de NaCl empleados en este trabajo son muy estrechos (1.4, 2.0 y 2.6 %), mientras que en los trabajos de Sereno, et. al, (2001) y Jokic, et al, (2007) emplearon concentraciones de NaCl hasta 8%.

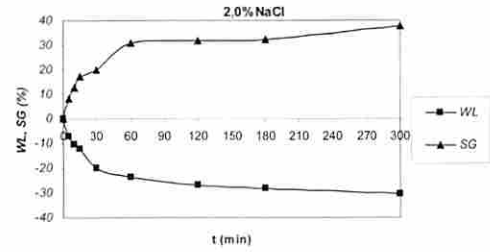
(a)



(b)



(c)



(d)

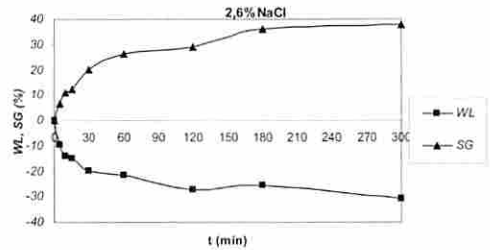


Figura 1. Variación de pérdida de agua y ganancia de solutos del tratamiento control (sacarosa a 45 °Brix + 0 % NaCl) y los tratamientos de sacarosa a 45 °Brix con adición de NaCl (1.4, 2.0 y 2.6%): (a) Tratamiento control (sacarosa +0% NaCl); (b) Sacarosa + 1.4 % NaCl; (c) Sacarosa + 2.0 % NaCl y (d) Sacarosa + 2.6 % NaCl.

El efecto del cloruro de sodio sobre la reducción de la WL se debe a que estas moléculas se difunden más fácilmente a través de la membrana del citoplasma de las células del plátano que las moléculas de la sacarosa, dado a que su peso molecular es menor (Isse y Schubert, 1992). Al difundirse el NaCl en el citoplasma se genera gradientes de concentración en las vacuolas y en el mismo citoplasma, permitiendo así extraer más agua desde el interior de la célula y de esta manera se incrementa la WL en el producto. Además se puede afirmar que las moléculas de sacarosa tienen la propiedad de acumularse fácilmente en la superficie del citoplasma, llamado el fenómeno de encostramiento, obstaculizando la transferencia de agua. Por el contrario con la adición de NaCl en la solución combinada se inhibe este fenómeno facilitando el flujo de agua (Lenart y Flink, 1984). De otro lado, según Sereno, et. al., (2001), afirma que el cloruro de sodio puede causar algunos cambios estructurales en la membrana celular de tejidos vegetales afectando sus propiedades físicas, permitiendo que la membrana celular sea más permeable.

Referente a los sólidos solubles el ANOVA evidenció que la adición de NaCl no afecta la SG entre los tratamientos con adición de sal (30 min, $p = 0.345$ y 300 minutos, $p = 0.745$). De igual manera comparando los tratamientos en los cuales se adicionó NaCl con el tratamiento control no se observaron diferencias en SG; para 30 minutos de proceso se obtuvieron valores similares de SG de 20% y para 300 minutos de 39%. Estos resultados son similares con otros productos vegetales, para concentraciones de NaCl menores del 3 %, manzana (Lerice, et. al, 1985) y remolacha (Jokic, et. al, 2007).

CONCLUSIONES

Se evidenció que el efecto combinado del NaCl y sacarosa potencia la WL en la DO de plátano al compararla con soluciones de sacarosa sin adición de sal a las mismas condiciones; mientras que este efecto no fue significativo para la SG. Concentraciones de NaCl entre 1.4 y 2.6 % en soluciones combinadas con sacarosa a 45°Brix no presenta diferencias significativas en la WL en el plátano DO. Se recomienda evaluar el efecto de NaCl sobre la WL y SG a distintas concentraciones de sacarosa, y evaluar el efecto de concentraciones mayores a 2.6 de NaCl sobre WL Y SG del plátano deshidratado osmóticamente.

BIBLIOGRAFIA

- Aoc. 1980. Official Methods Of Analysis. 13th Ed. Association Of Official Analytical Chemist, Washington, Usa.
- Arcila, P.; Giraldo, G.; Celis, F.; Duarte, J. 2002. Cambios Físicos Y Químicos Durante La Maduración Del Plátano Dominicano Hartón (Musa Aab Simmonds). En La Región Cafetera Central Colombiana. En: Acorbat. Memorias Asociación De Bananeros De Colombia Augura.. P. 455 – 463.
- Azuara, E.; Beristain, C.I. Y Gutiérrez, G.F. 2002. Osmotic Dehydration Of Apples By Immersion In Concentrated Sucrose/Maltodextrin Solutions. En: Food Process Preserv. 26, P. 295-306.
- Beristain, C.I., E. Azuara, R. Cortés, And H.S. García. 1990. Mass Transfer During Osmotic Dehydration Of Pineapple Rings. Int. Journal Food Sci. Tech. 25:576-582.
- Diaz, Alberto; Totte, Anne; Giroux, Francois; Reynes, Max Y Raoult-Wack, Anne Lucie. 1996. Deep-Fat Frying Of Plantain Characterizacion Of Control Parameters. En: Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie. Vol 24: P 489 – 497.
- Gupta, P., Shivhare, U. S., Y Bawa, A. S. 2000. Studies On Frying Kinetics And Quality Of French Fries. Drying Technology, 1–2, 311–321.
- Isse, M.G., Schubert, H. 1992. Osmotic Dehydration Of Mango: Mass Transfer Between Mango And Syrup. In D. Behrens (Ed.), Proceedings Of The Fourth World Congress Of Chemical Engineering .Pp. 728–745.
- Krokida, M. K., Oreopoulou, V., & Maroulis, Z. B. 2000. Water Loss And Oil Uptake As A Function Of Frying Time. Journal Of Food Engineering, 44, 39–46.
- Krokida, M. K., Oreopoulou, V., Maroulis, Z. B., & Marinou-Kouris, D. 2001. Effect Of Osmotic Dehydration Pretreatment On Quality Of French Fries. Journal Of Food Engineering, 49, 339–345.
- Jokić, A.; Gyura, J.; Lević, L. & Zavargó Z. 2007. Osmotic Dehydration Of Sugar Beet In Combined Aqueous Solutions Of Sucrose And Sodium Chloride. Journal Of Food Engineering, 78, (1), 47-5.
- Lenart, A., & Flink, J. M. 1984. Osmotic Concentration Of Potato. I. Criteria For The End-Point Of The Osmosis Process. Journal Of Food. Technology, 19, 45–63.
- Lerici, C. L., Pinnavaia, G., Dalla Rosa, M., & Bartolucci, L. 1985. Osmotic Dehydration Of Fruit: Influence Of Osmotic Agents On Drying Behaviour And Product Quality. Journal Of Food Science, 50, 1217–1219.
- Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie. 1996 Vol 29. P 452 – 459.
- Ponting, J. D. 1973. Osmotic Dehydration Of Fruits: Recent Modifications And Applications. Process Biochemistry, 8, 18–20.
- Qi, H., Le Maguer, M., & Sharma, S. K. 1998. Design And Selection Of. Processing Conditions Of A Pilot Scale Contactor For Continuous Osmotic Dehydration Of Carrots. Journal Of Food Process Engineering, 21, 75–88.
- Rasgoti, N.K., Y Raghavarao, K.S.M.S.1996). Kinetics Of Osmotic Dehydration Under Vacuum. En: Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie, Vol. 29, P. 669-672.
- Sablani, S.S., Rahman, M.S. 2003. Effect Of Syrup Concentration, Temperature And Sample Geometry On Equilibrium Distribution Coefficients During Osmotic Dehydration Of Mango. Food Res. Int. 36, 65-71.
- Saputra, D. 2001. Osmotic dehydration of pineapple. Drying Tech. 19(2), 415-425.
- Sachetti, G., Gianotti, A.,&Dalla Rosa,M. 2001. Sucrose—Salt Combined Effects On Mass Transfer Kinetics And Product Acceptability. Study On Apple Osmotic Treatments. Journal Of Food Engineering, 49, 163–173.
- Serenio, A. M., Moreira, R., & Martinez, E. 2001. Mass Transfer Coefficients During Osmotic Dehydration Of Apple In Single And Combined Aqueous Solutions Of Sugar And Salt. Journal Of Food Engineering, 47, 43–49.
- Spiazzi, E. Y Mascheroni, R. 1997. Mass Transfer Model For Osmotic Dehydration Of Fruits And Vegetables. I. Development Of The Simulation Model. En: Journal Of Food Engineering, Vol. 34, P. 387 – 410.
- Van Nieuwenhuijzen, N.H., Zareifard, M.R., Ramaswamy, H.S. 2001. Osmotic Drying Kinetics Of Cylindrical Apple Slices Of Different Size

COMPARACIÓN DE LA DESHIDRATACIÓN DE CUBOS DE ZANAHORIA EN LECHO FLUIDIZADO Y LECHO POR FUENTE-FLUIDIZADO CON Y SIN TUBO CENTRAL

Cárdenas Bailón Fernando, Osorio Revilla Guillermo⁽¹⁾ y Gallardo Velázquez Tzahyri.
Departamento de Ingeniería Bioquímica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. IPN. Prolongación de Carpio y Plan de Ayala, Col. Santo Tomas. Deleg. Miguel Hidalgo. C. P. 11340
(1) gosorio@encb.ipn.mx

Palabras clave: Termodegradación, deshidratación zanahoria, spouted bed, lecho fluidizado, enzimas en zanahoria.

RESUMEN

Se evaluó la deshidratación de cubos de zanahoria de 9mm por lado en un secador de lecho por fuente-fluidizado con y sin tubo central. Se compararon los resultados con el producto obtenido en un secador de lecho fluidizado convencional. Los coeficientes difusivos obtenidos en cada uno de los secadores (0.97×10^{-9} a 2.26×10^{-9} m²/s) se encuentran dentro de los valores reportados en la literatura para zanahoria. Se determinó la cantidad de aire utilizado por unidad de masa de sólido seco en cada uno de los procesos, concluyéndose que el secador de lecho por fuente-fluidizado con tubo central fue el más económico en su operación al requerir 4.72 veces menos aire por kilogramo de sólido seco que el lecho fluidizado. Se encontró que en el secador de lecho por fuente-fluidizado con y sin tubo central, el efecto de las temperaturas individuales de entrada por la fuente y por el anulo sobre la velocidad de secado, no son tan importantes, siendo de mayor relevancia la temperatura media entre ellos. En cuanto a la calidad del producto obtenido no se encontró degradación de carotenos en el producto de ninguno de los secadores utilizados. Se evaluó la actividad residual de la Peroxidasa (POD) y la Pectin Metil Esterasa (PME) como indicador de termodegradación, encontrando que el producto del secador de lecho por fuente-fluidizado con tubo central fue el que presentó las mejores retenciones, hasta 60% para la POD y hasta 100% para la PME. En general se concluyó que el secador de lecho por fuente-fluidizado con tubo central puede ser utilizado como una alternativa importante para la deshidratación de vegetales debido a que el proceso es más económico en su operación que el lecho fluidizado y se obtiene un producto de mejor calidad.

INTRODUCCIÓN

El secado o deshidratación de materiales biológicos, en especial los alimentos, es utilizado como técnica de preservación, ya que la mayoría de las reacciones enzimáticas que causan los cambios químicos en alimentos y otros materiales biológicos no se pueden llevar a cabo en ausencia de agua. Además, los microorganismos dejan de ser activos cuando el contenido de agua se reduce debajo del 10% en peso. Sin embargo, generalmente es necesario reducir este contenido de humedad por debajo del 5% en peso de los alimentos para preservar su sabor y valor nutritivo. Los alimentos secos pueden almacenarse durante largos períodos (Geankoplis, 1998).

En la industria de los alimentos se utilizan diversos equipos para el secado de vegetales como el secador de charolas, secador de túnel y de banda, sin embargo estos secadores presentan como desventaja que requieren largos períodos de secado y el producto no tienen una humedad uniforme. Aunque la liofilización está teniendo un gran auge debido a su alta retención de nutrientes, esta requiere de un gran capital y altos costos de operación (Pan et al., 1997).

El secado de productos biológicos sensibles al calor es un proceso complicado el cual puede alterar una gran variedad de características mecánicas, químicas y bioquímicas del producto deshidratado. Es por eso que se requiere de una selección adecuada de la tecnología de deshidratación así como de los parámetros de operación para obtener un producto de calidad (Pan et al., 1999).

A este respecto varios autores reportan la aplicación del lecho fluidizado al secado de vegetales (Reyes et al., 2002); ya que tiene la ventaja de ser de fácil construcción, bajo capital de inversión y bajos costos de operación y en lecho vibrofluidizado (Pan et al., 1999) que resuelve el problema de materiales difíciles de fluidizar además de que estos secadores mejoran la calidad del producto (Barbosa y Vega, 1996).

En años recientes se ha reportado la aplicación de un nuevo tipo de secador: el secador de lecho por fuente (Spouted bed), el cual tiene varias características distintivas como son: un movimiento cíclico sistemático de los sólidos, mejor contacto gas-sólido que el obtenido en lecho fluidizado, menor caída de presión para formar la fuente que la requerida para mantener una buena fluidización (Mathur y Epstein, 1974), compacto, de construcción simple y de bajo costo de mantenimiento, lo cual lo hacen una alternativa muy promisorio al secador de lecho fluidizado para el secado de frutos y vegetales.

Básicamente un secador de lecho por fuente (Spouted bed) consiste de un recipiente cilíndrico o cilindro cónico abierto en su superficie, el cual es llenado con partículas de sólidos relativamente grandes ($D_p > 1$ mm) y en el cual, el fluido (aire regularmente) es inyectado verticalmente a través de una pequeña abertura localizada en la base del recipiente. Si la velocidad de inyección del fluido es lo suficientemente alta provocará una corriente de partículas que ascienden rápidamente a través de una cavidad central o "spout" formada dentro del lecho de sólidos. Estas partículas después de alcanzar cierta altura sobre el nivel del lecho caen sobre la región anular, donde éstas viajan hacia abajo y hacia el centro en forma de un lecho flojamente empacado. (Barret et al., 1985). Un movimiento cíclico sistemático de sólidos es entonces establecido, provocando con esto que esta técnica posea un patrón hidrodinámico único, que la hace más conveniente para ciertas aplicaciones que la fluidización convencional (Barret et al., 1985).

Entre las aplicaciones reportadas del secador de lecho por fuente se encuentran el secado de granos como trigo, arroz y lentejas. También se ha reportado su uso como una alternativa al secado por aspersión de pulpas, soluciones y suspensiones sobre sólidos inertes (Mathur y Epstein, 1974). Pocos son los trabajos que se han publicado sobre la aplicación del secador de lecho por fuente para la deshidratación de vegetales, entre éstos, Pallai et al. (1987) reportan el secado de cubos de zanahoria y puré de papa en un secador de lecho por fuente convencional, pero no indican el efecto de este tipo de secador sobre la termodegradación del producto.

Con base en lo anterior, en este trabajo se evaluó el proceso de secado de cubos zanahoria en un secador de lecho por fuente-fluidizado con y sin tubo central y se comparó con los resultados obtenidos en un secador por lecho fluidizado convencional, evaluando el daño térmico ocasionado al producto por el proceso, usando como indicadores de termodegradación el contenido de carotenos, actividad enzimática residual (POD y PME) así como la capacidad de rehidratación del producto, para definir su posible aplicación como una alternativa al secador por lecho fluidizado convencional.

EQUIPO EXPERIMENTAL

El secador de lecho por fuente-fluidizado está formado por una columna de acrílico de 60cm de altura y 14.3cm de diámetro interno, colocado sobre una base cónica con un ángulo interior de 60° con perforaciones sobre toda su superficie de manera de

permitir la inyección de aire adicional por el anulo para airear el lecho. Un tubo central de acero inoxidable de 2.85 cm de diámetro interno, 1.8 mm de pared, fue colocado en el caso del secador con tubo central a una distancia de 9 cm del orificio de entrada del aire, proyectándose 3.55 cm por arriba del lecho. Un diagrama esquemático del equipo utilizado se presenta en la figura 1.

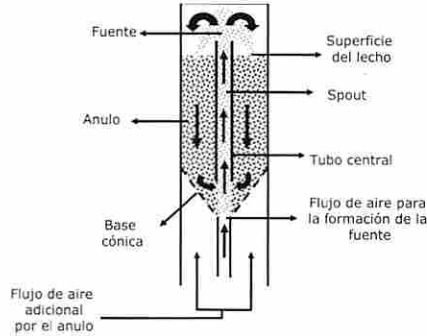


Figura 1: Representación esquemática del secador de lecho por fuente-fluidizado con tubo central.

El secador de lecho fluidizado utilizado como comparación, consistió de una columna de acrílico de 9cm de diámetro interior, 50cm de altura al cual le fue acoplado una lámina perforada en su base como soporte del lecho y distribuidor de flujo.

MATERIALES Y METODOS

La zanahoria utilizada en este trabajo fue del tipo Nantes, la cual fue adquirida en un mercado local. Primeramente la zanahoria se lavó al chorro de agua y se procedió a eliminar la corona y el rabo de forma manual con un cuchillo. Posteriormente esta se peló con un pelador manual y se procedió a obtener cubos de zanahoria de 9mm por lado aproximadamente. Para esto se paso la zanahoria por un cortador de papas a la francesa manual cortándose longitudinalmente, luego las tiras obtenidas se colocaron para hacer un corte transversal para de esta forma obtener los cubos. Posteriormente los cubos se cribaron en una criba con malla de 8mm de abertura para obtener solo los cubos más uniformes retenidos en la malla.

Dado que el objetivo de este trabajo fue evaluar el daño térmico sufrido por el producto en los diferentes secadores utilizados, determinando la actividad de POD, PME y el contenido de carotenos como indicadores de termodegradación, no se realizó ningún tipo de escalde ni tampoco se sulfitó la zanahoria. Antes del secado, se tomó una muestra inicial de la zanahoria cubicada, para el análisis de β -caroteno, actividad enzimática inicial y caracterización física de las partículas.

En el secador de lecho fluidizado se utilizó una altura de lecho equivalente a 1.0 veces el diámetro del contenedor (9cm), utilizando tres temperaturas diferentes 60°C, 70°C y 80°C. Debido al cambio de densidad del producto durante la deshidratación, la velocidad del aire se fue disminuyendo gradualmente conforme avanzaba el secado desde 7.7 m/s iniciales hasta 4.5 m/s al final del proceso, equivalentes a 1.45 y 0.84 veces la U_{mf} de la zanahoria fresca respectivamente.

En el secador de lecho por fuente-fluidizado sin tubo central se utilizó una altura de lecho equivalente a 1.2 veces el diámetro del contenedor. Las temperaturas de secado fueron 60°C, 70°C y 80°C del aire por el ducto central, utilizando para cada una de ellas tres temperaturas del aire alimentado por el espacio anular (60°C, 70°C y 80°C). La velocidad del aire tanto por el ducto central como por la región anular también se fue disminuyendo gradualmente conforme avanzaba el secado. La velocidad inicial en el ducto central fue de 1.05 m/s, y en el anulo 1.67 m/s. Estas velocidades se disminuyeron hasta 0.39 m/s en el ducto central y 0.9 m/s en el anulo.

En el secador de lecho por fuente-fluidizado con tubo central se utilizaron las mismas temperaturas de operación que para el lecho por fuente-fluidizado sin tubo central. Sin embargo debido a la inserción del tubo central, las velocidades de aire

fueron diferentes. La velocidad inicial en el ducto central fue 0.95 m/s y la del anulo de 1.54 m/s. Estas velocidades se disminuyeron hasta 0.68m/s en el ducto central y 0.51 m/s en el anulo.

Determinación de coeficiente de difusión de la humedad: Se calculó el valor medio del coeficiente de difusión efectiva de la humedad a través del sólido con base en la solución a la 2ª ley de Fick para una esfera, dada la irregularidad de la forma de los cubos de zanahoria durante el secado.

Cuantificación de β -caroteno: La determinación de carotenos en el producto fresco y seco se llevó a cabo como lo reportan Zheng-Wei et al, (2004) por un método de la AOAC modificado.

Determinación de humedad: La humedad se determinó con base en la norma NMX-F-257-S-1978 (100°C en estufa por 3 horas) tanto para la muestra fresca como deshidratada.

Determinación de actividad de peroxidasa (POD): La actividad de la peroxidasa se determinó monitoreando el cambio de absorbancia a 420 nm por unidad de tiempo debido a la oxidación del sustrato catalizada por la enzima. El sustrato utilizado fue el guayacol. El análisis fue efectuado a temperatura ambiente en un espectrofotómetro UV-visible. El aumento de absorbancia fue registrado en un registrador de carta por 5 min y se utilizó la pendiente en la parte recta de la curva para calcular la actividad de la enzima.

Determinación de actividad de Pectin Metil Esterasa (PME): La actividad de la pectin metil esterasa PME se determinó por la titulación continua de los grupos carboxílicos liberados de una solución de pectina cítrica, con una solución 0.01N de NaOH, a 30°C. El volumen de NaOH utilizado fue monitoreado como una función del tiempo.

RESULTADOS Y DISCUSION

Secador de lecho fluidizado. Las curvas de secado obtenidas con el secador de lecho fluidizado indicaron que todo el secado se realiza en el periodo decreciente, incrementándose la velocidad de secado con la temperatura de proceso.

Los coeficientes de difusión efectiva experimentales, se encuentran dentro del intervalo reportado en la literatura para zanahoria (2.3×10^{-10} - 4.5×10^{-9} m²/s, Zogzas et al., 1996) y se muestran en el cuadro 1.

Cuadro 1: Coeficientes de difusión efectiva en el secador por lecho fluidizado

Temperatura de secado (°C)	$D_{ef} \times 10^9$ (m ² /s)
60	1er. subperiodo 1.29
	2do. subperiodo 1.16
70	1.54
80	2.23

Secador de lecho por fuente-fluidizado. La figura 2 muestra las curvas de secado de los cubos de zanahoria deshidratadas en el secador de lecho por fuente-fluidizado sin tubo central para todas las condiciones de operación utilizadas. Se puede apreciar que el efecto de las temperaturas individuales de entrada por la fuente y por el anulo sobre la velocidad de secado, no son tan importantes, siendo de mayor relevancia la temperatura media entre ellos.

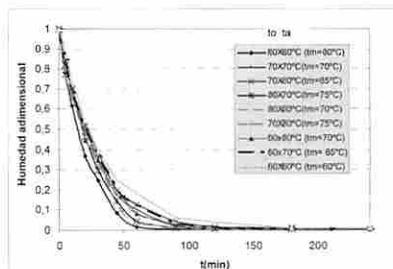


Figura 2: Curvas de secado de cubos de zanahoria en el secador de lecho por fuente-fluidizado sin tubo central a diferentes temperaturas.

Con la inserción de tubo central se obtuvieron curvas de secado similares, por lo que se concluyó que la inserción del tubo central no tiene ningún efecto en el tiempo de secado, pero si en los flujos de aire manejados. Los coeficientes de difusión obtenidos en el secador de lecho por fuente con y sin el tubo central fueron muy similares entre si y se presenta un valor medio entre ambos en el cuadro 2.

Cuadro 2: Coeficientes de difusión efectiva para cubos de zanahoria, calculados a diferentes temperaturas en el secador de lecho por fuente-fluidizado con y sin tubo central.

Temperatura de secado (°C)	Temperatura media (°C)	$D_e \times 10^4$ (m ² /s)
$t_{fuente} \times t_{anulo}$	t_m	
80X80	80	2.26
80X70	75	1.80
70X80	75	1.83
70X70	70	1.32
80X60	70	1.36
60X80	70	1.39
70X60	65	1.15
60X70	65	1.25
60X60	60	0.97

Se determinó la cantidad de aire utilizado por unidad de masa de sólido seco en cada uno de los procesos, encontrándose que el secador de lecho por fuente-fluidizado sin tubo central requirió 4.21 veces menos aire por kilogramo de sólido seco que el lecho fluidizado. Por su parte, el secador de lecho por fuente-fluidizado con tubo central resultó ser aún más económico al requerir alrededor de 12 % menos aire por kilogramo de sólido seco que el secador sin tubo central, tanto en las condiciones iniciales como finales. Comparado con el secador de lecho fluidizado convencional, el secador de lecho por fuente-fluidizado con tubo central requirió 4.72 veces menos aire para las condiciones iniciales y 5.72 veces menos en las condiciones finales.

En la figura 3 se muestra el porcentaje de retención de carotenos de la zanahoria deshidratada en cada una de las condiciones de secado para los tres secadores utilizados. Como se puede observar, no existe diferencia significativa en la retención de carotenos en ninguno de los secadores ni en ningún esquema de secado, obteniéndose en promedio una retención superior al 97 %.

Con respecto a la actividad residual de POD y de PME se obtuvieron las mejores retenciones (menor daño térmico) cuando se utilizó 60°C en el anulo y 60°C en el tubo central en el secador de lecho fluidizado con tubo central (Figura 4 y 5).

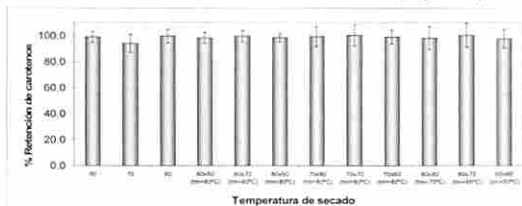


Figura 3: Porcentaje de retención de carotenos de los cubos de zanahoria deshidratados en lecho fluidizado convencional y lecho por fuente-fluidizado a diferentes temperaturas.

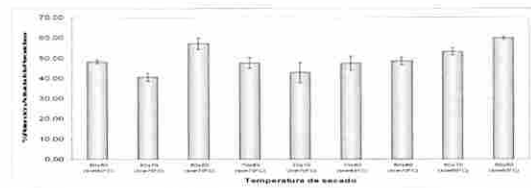


Figura 4: Porcentaje de retención de actividad de Peroxidasa (POD) en cubos de zanahoria deshidratados a diferentes temperaturas en lecho fluidizado con tubo central.

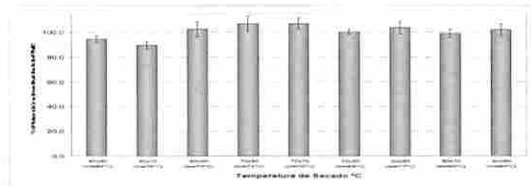


Figura 5: Actividad residual de PME en cubos de zanahoria deshidratados a las diferentes temperaturas de secado en lecho por fuente-fluidizado con tubo central

CONCLUSIONES

En el intervalo de condiciones de operación utilizados en este trabajo, el secador de lecho por fuente- fluidizado con tubo central resultó ser más 12% más económico en su operación que el secador de lecho por fuente-fluidizado sin tubo central, requiriendo 4.72 veces menos aire por kilogramo de sólido seco que el lecho fluidizado. El efecto de las temperaturas individuales de entrada por la fuente y por el anulo sobre la velocidad de secado, no son tan importantes, siendo de mayor relevancia la temperatura media entre ellos.

De los resultados anteriores se puede concluir que en general el secador de lecho por fuente-fluidizado con tubo central puede ser utilizado como una alternativa importante para la deshidratación de vegetales debido a que el proceso es más económico en su operación que el lecho fluidizado y se obtiene un producto de mejor calidad (menor daño térmico).

BIBLIOGRFÍA

- Geankoplis, C. J. (1998) "Procesos de transporte y operaciones unitarias". Compañía Editorial Continental, México.
- Pan, Y. K., Zhao, L. J., Dong, Z. X., Mujumdar, Z. X. y Kudra, T. (1999) "Intermittent Drying of Carrot in a Vibrated Fluid Bed: Effect on product quality". Drying Technology 17 (10), 2323-2340.
- Reyes, A., Alvarez P.I. y Maquardt F.H. (2002) "Drying of carrots in a fluidized bed" I Effects of drying conditions and modelling". Drying technology, 20(7), 1463-1483.
- Barbosa, C. G. V. y Vega, M. H. (1996) "Dehydration of Foods". International Thomson Publishing, USA.
- Mathur, K. B. y Epstein, N. (1974) "Spouted beds" Academic press New York USA.
- Pallai, E., Nemeth, J. y Mujumdar, A. S. (1987) in Mujumdar, A. S. Editor of "Handbook of Industrial drying" Manual Decker Canada.
- Barret, N. D., Fane, A. G., Clafin, J. K. y Hadzismajilovic, D. (1985). "The industrial potential and economic viability of spouted bed processes". Chemeca 85", 13th Australian Chem. Eng. Conf., Pert, 401-405.

CONSERVACIÓN DE AJO (*Allium sativum* L.) MINIMAMENTE PROCESADO MEDIANTE TÉCNICA DE IMPREGNACIÓN A VACÍO

Pérez-Cabrera, Laura Eugenia*; Ramírez Gómez, María Magdalena; Ramírez Carillo, Rosa Elena.

Departamento de Tecnología de Alimentos, Centro de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma de Aguascalientes. Apartado Postal No.3. C. P. 20900, Jesús María, Aguascalientes, México.

* leperez@correo.uaa.mx

Palabras clave: procesamiento de alimentos, ajo, impregnación a vacío, procesamiento mínimo, respiración

RESUMEN

En el presente trabajo se estudia el efecto de la impregnación a vacío (IV) como técnica utilizada para el desarrollo de ajo blanco cv. Perla minimamente procesado. Los dientes de ajo fueron picados y sanitizados con una solución de cloro (200 ppm) y posteriormente impregnados con soluciones de agentes antipardeantes (ascorbato y citrato) con o sin lactato de calcio. Ajos sin aplicación de tratamiento fueron utilizados como control. Las etapas de procesamiento mínimo de pelado y picado de dientes de ajo, así como la IV provocó un incremento significativo en la tasa de respiración de CO₂. Al evaluar las muestras al final de la etapa de almacenamiento durante 25 días a 4°C se encontró que la IV soluciones antipardeantes que contienen Calcio provoca un aumento en la vida útil del producto posiblemente aunado a un reforzamiento en la estructura celular por acción del ion Calcio y un aumento en la calidad visual determinada por un panel de catadores.

INTRODUCCIÓN

Debido a la creciente demanda por parte del consumidor de productos vegetales listos para consumir, se ha incrementado la necesidad de estudiar y optimizar tratamientos que garanticen la calidad y cualidad de productos frescos cortados. Los productos que están listos para su consumo en fresco, son estables y contienen características muy similares al producto original, permaneciendo vivos después del procesado. Generalmente han sufrido exclusivamente tratamientos físicos simples de preparación y para su conservación y distribución se someten únicamente a refrigeración (Rolle y Chism, 1987; Shewfelt, 1987). Huxsoll y Bolin (1989) introdujeron una modificación importante en el concepto anterior, ya que sugieren que el requisito del que los tejidos continúen estando vivos no es necesario, si la frescura se mantiene. Wiley (1994) definió a los productos hortofrutícolas minimamente procesados como aquellos alimentos a los que se les ha modificado sólo ligeramente su apariencia original, mostrando un aspecto fresco tanto en sus características como en su calidad, y que mantienen tejidos vivos, aunque éstos no presentan las mismas respuestas fisiológicas que los vivos sin tratar, debido a las operaciones sufridas. (calor, radiación, aplicación de conservadores, entre otros).

El ajo (*Allium sativum* L) es un valioso condimento de uso diario en la cocina y un importante ingrediente en comidas preparadas. Al igual que otras hortalizas su procesamiento (pelado, cortado, picado, secado, etc.) acelera la superficie para reacciones de pardeamiento enzimático y no enzimático, pérdidas de humedad y de sabores, así como el desarrollo de microorganismos. La comercialización de ajo picado es una alternativa interesante que proporciona al consumidor un producto fresco de inmediata utilización. El rechazo está determinado fundamentalmente por la variación del aspecto, en especial del color, ya que es un indicador de pérdida de frescura. Estas deterioraciones pueden producir un producto de pobre calidad y una corta vida útil. El impacto del procesamiento mínimo y la incorporación de agentes

protectores mediante la técnica de impregnación de vacío (IV) sobre ajo minimamente procesado y almacenado fueron el objetivo de este trabajo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ajo: se utilizaron bulbos de ajos blancos variedad Perla provenientes del mercado local con estado de madurez óptimo libres de daños e infecciones. Los ajos fueron pelados y picados y posteriormente se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio (200 ppm) durante 1 min. a 4 °C.

Soluciones antipardeantes de impregnación: se utilizó soluciones con agentes antipardeantes, 2% de Citrato de Sodio, 2% Ascorbato de Sodio combinados con 2% de Lactato de Calcio, como control se utilizó agua destilada sin tratamiento de impregnación a vacío.

Impregnación a vacío: se realizó durante 15 min. a 50 cmHg y posteriormente 15 min. a presión atmosférica

Envasado: las muestras fueron envasadas en bolsas de polietileno con cierre hermético del tipo *Zipper lock* y almacenadas en refrigeración (4°C).

Tasa de respiración de CO₂ (TR): se utilizó un método estático en un detector de CO₂ (Chopin)

Color: se midió por reflexión con un espectrocólorímetro (Minolta, CR-400). Se obtuvieron las coordenadas CIE-L*a*b*, y a partir de éstas se calcularon croma (Cab*) y tono (hab*).

Recuento de microorganismos mesófilos, psicrótrofos, mohos y levaduras: se llevo a cabo utilizando los métodos descritos en la APHA (American Public Health Association, 1992), expresando los resultados como logaritmo de unidades formadoras de colonias por gramo de muestra (Log₁₀ ufc/g). Los recuentos microbiológicos se realizaron por duplicado, efectuándose después de la aplicación del tratamiento (t=0 días) y posteriormente cada 5 días durante 25 días.

Calidad visual: fue determinada de forma subjetiva utilizando la siguiente escala 1: no deseable 3: pobre 5: indiferente 7: aceptable y 9: excelente. Se utilizó un panel de catadores semi entrenado compuesto por 8 adultos (22 a 25 años).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de la Impregnación de Vacío

Se encontró (Figura 1) que la aplicación de un procesamiento mínimo del pelado, rebanado y picado, así como la aplicación de un pulso de vacío produce un aumento significativo en la tasa de respiración de CO₂. Este aumento tal vez este asociado al estrés celular ocasionado por las operaciones de manipulación que provocan alteraciones en su fisiología, potenciándose tanto la cadena de transporte de electrones como el ciclo de los ácidos tricarbóxicos (Brecht, 1995).

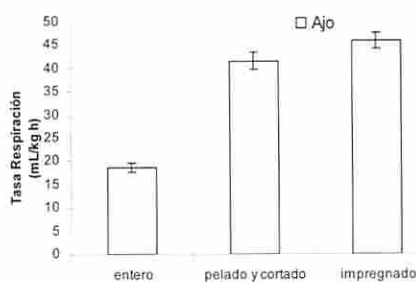


Figura 1. Efecto del procesado mínimo en la tasa respiratoria (TRCO₂) de ajo.

Con lo que respecta a los cambios en los parámetros de color y de fuerza de las muestras se tiene que la aplicación de vacío no dio lugar a diferencias significativas (Figura 2 y 3). Sin embargo se tiene una ligera tendencia al descenso de la luminosidad, esto debido a que la IV supone una homogeneización del índice de refracción de las muestras, y por tanto, produciendo cambios en las propiedades ópticas como son un incremento en la translucidez y un descenso de la luminosidad, de la pureza de color y del tono de las muestras, que vira hacia coloraciones amarillas como consecuencia de la sustitución del aire de los poros por disolución.

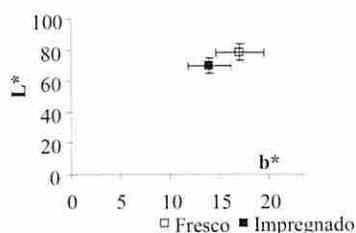


Figura 2. Efecto de la impregnación a vacío sobre el color de ajo mínimamente procesado

Además en la Figura 3 se observa que la IV supone una disminución de la fuerza de la muestra impregnada dando lugar a muestras menos resistentes causando una deformación del tejido que daña a las uniones celulares y provocan la separación de las células del tejido, afectando al comportamiento mecánico (Fito *et al.*, 2001).

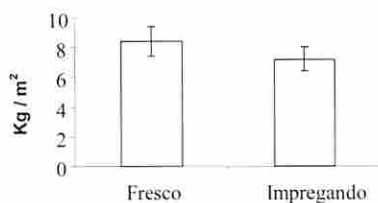


Figura 3. Efecto de la impregnación a vacío sobre la resistencia a la penetración de ajo mínimamente procesado

Cambios durante el almacenamiento

Con respecto a los recuentos de aerobios mesófilos y psicrótrofos, todas las muestras tratadas con lactato de calcio y con ascorbato presentaron gran estabilidad hasta 20 días de almacenamiento. Las muestras tratadas con solución isotónica y citrato sin lactato de calcio mostraron el crecimiento microbiano significativamente mayor a lo largo del almacenamiento

Tabla 1. Valores medios de crecimiento de microorganismos a lo largo del almacenamiento (0 a 25 días) a 4°C^{XY}

Tipo de Muestra	Mesófilos aeróbicos	Psicrótrofos
	Log ₁₀ (Ufc/g)	
Ascorbato	1.7±1.1 ^{ab}	1.4±0.9 ^a
Ascorbato-Ca ⁺⁺	1.0±0.0 [†]	1.1±0.2 ^a
Citrato	1.6±1.5 ^{ab}	2.1±2.0 ^{ab}
Citrato-Ca ⁺⁺	1.0±1.0 [†]	1.0±1.0 [†]
Control	3.3±1.6 ^c	3.0±2.3 ^b
Control-Ca ⁺⁺	2.3±1.1 ^{bc}	1.5±1.1 ^a
Anova p	0.0003	0.0043

x la media de dos determinaciones ± derivación estándar y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

La calidad visual determinada por un panel se muestra en la Tabla 2 donde se observa que muestras impregnadas con agentes antipardeantes reciben una mejor puntuación y mantienen una aceptación mayor aquellas en las que se utilizó calcio.

Tabla 2. Valores medios de puntuación de escala arbitraria de calidad visual a 25 días de almacenamiento a 4°C

Tipo de Muestra	Calidad Visual
Ascorbato	7.6
Ascorbato-Ca ⁺⁺	8.0
Citrato	5.7
Citrato-Ca ⁺⁺	6.9
Control	2.1
Control-Ca ⁺⁺	4.7

La aplicación de un tratamiento con agentes antipardeantes disminuye significativamente la presencia de pardeamiento enzimático y pérdida de calidad visual.

CONCLUSIONES

Del presente estudio se concluye que la impregnación a vacío tiene un efecto negativo en la TR-CO₂ provocando un aumento y por tanto un estrés mayor del tejido. Sin embargo la impregnación con soluciones que contienen Calcio provoca un aumento en la vida útil del producto posiblemente aunado a un reforzamiento en la estructura celular por acción del ion Calcio y un aumento en la calidad visual determinada por un panel de catadores.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Aguascalientes por el financiamiento para el proyecto interno PIAL 06-05.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Fito, P., Chiralt, A., Betoret, N., Gras, M., Chafer, M., Martínez-Monzo, J., Andrés, A., & Vidal, D. (2001). Vacuum impregnation and osmotic dehydration in matrix engineering: application in functional fresh food development. *Journal of Food Engineering*, 49: 175-183.

Huxsoll, C. C.; Bolin, H. R. (1989) Processing and distribution alternatives for minimally processed fruits and vegetables. *Food Technology*, 43(2): 124-128.

Rolle, R.S.; Chism, G. W. (1987) Physiological consequences of minimally processed fruits and vegetables. *Journal of Food Quality*, 10(3): 157-177.

Shewfelt, R. L. (1987) Quality of minimally processed fruits and vegetables. *Journal of Food Quality*, 10 (3): 143-156.

Wiley, R. C. (1994) Minimally processed refrigerated fruits and vegetables. Chapman & Hall.

IMPREGNAÇÃO A VÁCUO DE AMIDO GELATINIZADO PARA A PRESERVAÇÃO DA MICROESTRUTURA DE MELÕES CONGELADOS

Jaime Vilela de Resende^{*}; Marciu José Reno, Mônica Elisabeth Torres Prado

UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA DOS ALIMENTOS

Caixa Postal 3037, CEP37200-000, email: jvresende@ufla.br

LAVRAS/MG - BRASIL

Palavras chaves: frutas congeladas, textura, microestrutura, impregnação a vácuo.

RESUMO

Cortes cilíndricos de melões (*Cucumis melo* var inodorus) foram submetidos a impregnação com soluções de cloreto de cálcio (0,5 g/100mL de solução) adicionadas de amido gelatinizado (0, 5 e 10 g/100mL de solução) e glicose (0, 10 e 20 g/100mL de solução) com pressão de vácuo (84,4; 50,5 e 16,6 kPa) controlada, e, posteriormente congelados em ar estático. Foram feitas medidas do teor de sólidos solúveis totais, perda de fluido celular e textura de pedaços de melões antes e após congelamento/descongelamento. As variações desses parâmetros foram calculadas em relação aos do fruto original. Alterações na viscosidade das soluções durante os processamentos também foram quantificadas. A disposição dos solutos na microestrutura da parede celular dos frutos foi visualizada por microscopia eletrônica de varredura das amostras congeladas e liofilizadas. A existência de processos sinérgicos entre os fluxos de solutos do fruto e da solução pode ser constatada e analisada através de superfícies de resposta para as diferentes pressões em função das concentrações de amido gelatinizado e de glicose nas soluções. A concentração de amido gelatinizado que influencia a viscosidade da solução e a pressão de vácuo desempenham uma função importante na impregnação efetiva e na preservação das microestruturas. A incorporação mais efetiva de solutos no tecido do fruto ocorre com concentrações de amido gelatinizado em torno de 5 g/100mL de solução e com pressões de vácuo de 50,5 e 16,6 kPa sendo esses pré-tratamentos os que melhor preservam a textura e microestrutura de melões congelados em ar estático.

INTRODUÇÃO

O uso de soluções de açúcares, hidrocolóides, sais de cálcio e sódio, e, associações e misturas envolvendo estes produtos têm sido os tratamentos indicados como substâncias que aumentam a resistência da estrutura celular ao congelamento. Grande parte destes compostos atua interagindo com os componentes da parede celular ou reduzindo o crescimento de cristais de gelo, mantendo a integridade da microestrutura após o descongelamento (Resende e Cal-Vidal, 2002).

A impregnação a vácuo é uma operação geralmente usada em processamento de frutas e vegetais para obter diversos tipos de produtos, tais como minimamente processados, de umidade intermediária ou como pré-tratamentos para a secagem (Nieto *et al.*, 1998) ou para o congelamento (Forni *et al.*, 1987, Fito e Chiralt, 2000).

A impregnação a vácuo é considerada como uma técnica útil para introduzir rapidamente líquidos externos nas estruturas porosas de tecidos de plantas e animais. Como consequência, alguns processos de transferência de massa são melhorados e podem ser produzidas alterações nas composições do produto.

A principal forma de deterioração que inviabiliza o congelamento e armazenamento congelado de frutas em pedaços é a perda de textura decorrente dos danos mecânicos causados por cristais de gelo às paredes celulares nos tecidos. (Fennema *et al.*, 1973; Bombem e King, 1982).

No processo de impregnação a vácuo, as soluções são incorporadas nos espaços intercelulares com a retirada do ar pelo equipamento de vácuo. No congelamento posterior os componentes da solução modificam os hábitos de crescimento dos cristais de gelo, influenciando a mobilidade molecular da

água necessária para o crescimento ou aumentam a resistência dos tecidos pela interação destes componentes com os compostos de parede celular.

O presente trabalho teve como objetivos: (i) analisar a influência da concentração de solutos e pressão no processo de impregnação a vácuo sobre a preservação da textura e microestrutura de frutos de melão após congelamento/descongelamento; (ii) analisar o comportamento reológico da solução usada no processo de impregnação após o seu congelamento/descongelamento e comparar com o comportamento da solução original; e, (iii) estabelecer parâmetros operacionais e especificar dentre os tratamentos testados, quais aqueles se mostraram mais efetivos na manutenção das características originais dos pedaços de frutas.

MATERIAL E MÉTODOS

Preparo das amostras

Cilindros (2,5 cm de diâmetro) de melão (*Cucumis melo* var inodorus) foram obtidos a partir das seções medianas e cortados na direção radial em relação ao eixo maior de frutos frescos obtidos no mercado local. Estes foram submetidos à impregnação com pressão de vácuo de 84,4 kPa (844 mbar); 50,5 kPa (505 mbar) e 16,6 kPa (166 mbar) em três tipos de soluções constituídas de amido gelatinizado em concentrações de 0 ; 5 e 10% , adicionados de cloreto de cálcio 0,5% e glicose em concentrações de 0 ; 10 e 20% durante um período de 4 horas.

Preparo das soluções de amido gelatinizado usadas nos pré-tratamentos

A gelatinização do amido foi obtida seguindo o seguinte procedimento: a) suspensão do amido em pequenas quantidades de água destilada e deionizada fria; (b) adição da suspensão em água aquecida na temperatura de 80 °C sob agitação até a solução tornar-se transparente; (c) adição dos demais componentes; e, (d) aferição do volume.

Processo de impregnação a vácuo

A impregnação a vácuo de pedaços de frutos de melão foi feita em uma câmara com pressão controlada por manômetro e acoplada a uma bomba de alto vácuo (BOC- EDWARDS – Mod. E2M8), como esquematizado na Figura 1.

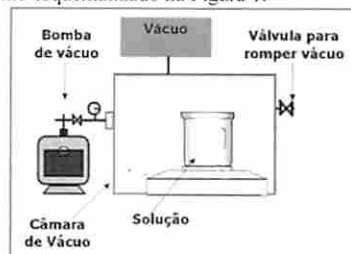


FIGURA 1. Equipamento impregnação a vácuo.

Determinação do teor de sólidos solúveis totais (SST)

O teor de SST foi avaliado "in natura" e após o congelamento/descongelamento por leitura direta em refratômetro digital (ATAGO – PR100), utilizando suco de melão obtido após a filtração da polpa.

A variação do teor de SST (VP_{SST}) de frutos de melão submetidos aos pré-tratamentos foi avaliada pela diferença percentual entre os valores medidos após

congelamento/descongelamento (SST_F) e comparados com os do fruto original (SST_{or}).

$$VP_{SSTF} = \frac{SST_F - SST_{or}}{SST_{or}} \times 100 (\%) \quad (1)$$

onde: SST (°Brix) é o teor de sólidos solúveis totais obtido pela média de 3 repetições.

Perda de fluido celular (PFC)

Foi avaliada por meio de balanços de massa antes e após congelamento/descongelamento e drenagem. A drenagem foi feita mantendo as amostras descongeladas em repouso sobre uma peneira durante um tempo de 15 minutos. O tratamento dos resultados foi feito usando a seguinte equação:

$$PFC = \frac{m_f - m_{or}}{m_{or}} \times 100 (\%) \quad (2)$$

onde PFC expressa a perda de fluido celular das amostras ou a redução percentual de peso das amostras; m_f é o peso médio das amostras após congelamento e m_{or} é o peso médio das amostras do fruto original.

Determinação da textura

Foi feita usando testes de compressão uniaxial usando uma máquina de teste universal (TA.XT2 Texture Analyser, Stable Micro Systems). A sonda de agulha ("puncture test") foi usada nos testes. Os valores médios das leituras da força máxima FMAX (N) para a resistência à penetração foram aplicados na equação (3) usada para analisar a variação percentual da textura (VP_{text}) pós-congelamento/descongelamento (F).

$$VP_{text} = \frac{FMAX_f - FMAX_{or}}{FMAX_{or}} \times 100 (\%) \quad (3)$$

Determinação da viscosidade da solução

A determinação das viscosidades das soluções originais usadas nos processos de impregnação e das soluções congeladas/descongeladas foi feita a partir de leituras em viscosímetro (Brookfield modelo RVT). As leituras da viscosidade (mPa.s) das soluções originais ($VISC_{or}$) e das soluções congeladas/descongeladas ($VISC_f$) foram analisadas usando a equação (4), usada para analisar a variação percentual da viscosidade das soluções (VP_{visc}) congeladas/descongeladas comparadas com suas características originais.

$$VP_{visc} = \frac{VISC_f - VISC_{or}}{VISC_{or}} \times 100 (\%) \quad (4)$$

Congelamento e descongelamento

Frutos embalados em sacos plásticos, foram congelados com ar estático em congelador (Metalfrio) doméstico horizontal com temperatura interna de 20 ± 2 °C durante 48 horas.

Microscopia eletrônica de varredura

Amostras foram desidratadas em liofilizador (Edwards, Modelo L4KR) com temperatura de operação de -40°C e pressão de vácuo de 0,0998 kPa (0,998 mbar). Estas foram armazenadas a vácuo em dessecadores contendo sílica-gel, recobertas com ouro e visualizadas em um microscópio eletrônico de varredura (LEO-Mod. EVO) a uma tensão de aceleração de 20 kV.

Análise estatística

O efeito dos fatores sobre a variação do teor de SST, incorporação ou perda de componentes, textura e viscosidade em função das concentrações de amido gelatinizado, glicose, e pressão de vácuo foram avaliados usando superfícies de respostas. Essas foram obtidas a partir de ajustes (Statistica versão 7.0 – Statsoft®) usando modelo linear e quadrático aplicado aos dados experimentais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análises físico-químicas

A Figura 2 mostra a superfície de respostas da variação percentual do teor de SST após o congelamento/descongelamento em função da concentração (g/100mL de solução) de amido e glicose para a pressão de vácuo de 50,5 no processo de impregnação.

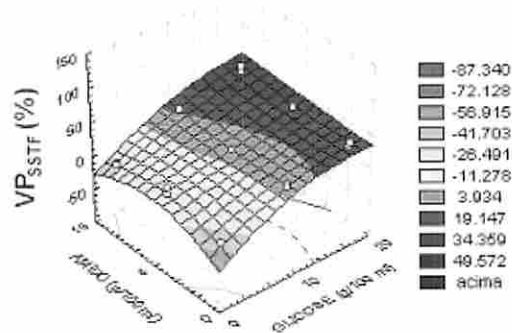


FIGURA 2 - Variação percentual do teor de SST após congelamento/descongelamento de pedaços de melão em função das concentrações de amido gelatinizado e glicose para pressões de vácuo 50,5 kPa.

Perda de Fluido Celular (PFC)

A superfície de resposta da Figura 3 mostra a perda de fluido das frutas por exsudação após o congelamento em função das concentrações de amido gelatinizado e glicose nos processos de impregnação com pressão de vácuo 50,5 kPa.

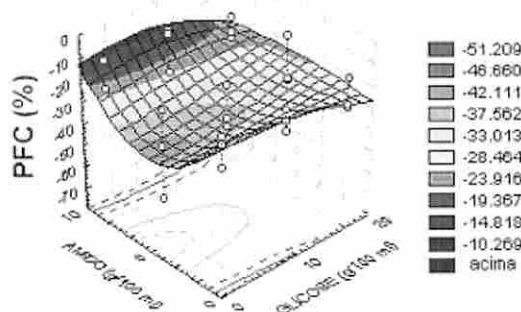


FIGURA 3 – Perda de fluido celular (PFC) de frutas de melão em função das concentrações de amido gelatinizado e glicose para pressão de vácuo de 50,5 kPa.

Textura

A Figura 4 mostra a superfície de resposta ajustada para a variação percentual da resistência à penetração de pedaços de frutas após os tratamentos de impregnação a vácuo, congelamento e descongelamento com relação à resistência de fruto "in natura". As superfícies mostram que as texturas das amostras são melhores preservadas quando se utiliza concentração de amido na solução em torno de 5g/100 mL de solução. A incorporação ou retirada de componentes da microestrutura modifica a turgidez e o volume celular e, consequentemente a resistência da parede celular a testes de perfuração. A viscosidade adequada da solução contendo amido gelatinizado promove melhor a difusão e incorporação dos solutos nas microestruturas celulares.

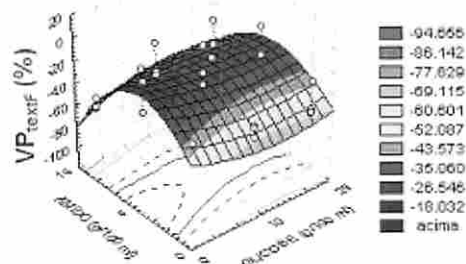


FIGURA 4 - Variação percentual da resistência à penetração de pedaços de frutas após congelamento/descongelamento em função das concentrações de amido gelatinizado e glicose para pressão de vácuo de 16,6 kPa.

Viscosidade

As variações percentuais entre os valores da viscosidade para a pressão de processamento de 50,5 kPa pode ser visualizadas na superfície de resposta, ajustada por mínimos quadrados mostradas na Figura 5. A Figura 5 mostra que há uma grande variação da viscosidade da solução após o congelamento, principalmente com soluções com concentrações de amido em torno de 5 g/100 mL de solução. A retrogradação do amido pode ser responsável pelas grandes variações das viscosidades. Após a gelatinização do amido, quando a temperatura é reduzida, ocorre um rearranjo das moléculas por ligações de hidrogênio, fator que favorece a retrogradação. Este fenômeno trata da reconstrução de uma estrutura mais rígida devido às cadeias de amilose ficarem mais disponíveis para se rearranjarem, o que influencia na mobilidade de água e precipitação de grânulos de amido nos sistemas.

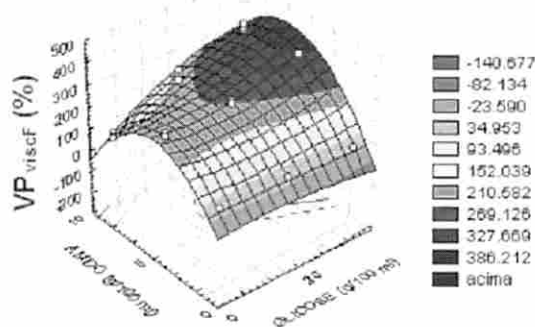


FIGURA 5 - Variação percentual da viscosidade da solução após os processos de congelamento e descongelamento para pressões de vácuo de: (A) 84,4 kPa; (B) 50,5 kPa.

Análise da microestrutura - Influência da pressão de vácuo

A Figura 6 mostra fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura de melão após congelamento submetido à impregnação a vácuo com solução com concentração de 10 g de amido/100 mL de solução, 20 g de glicose/100 mL de solução e diferentes pressões de vácuo no tratamento pré-congelamento.

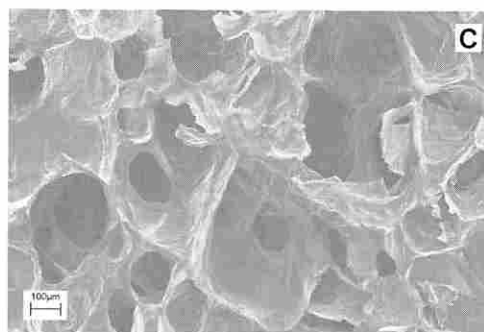
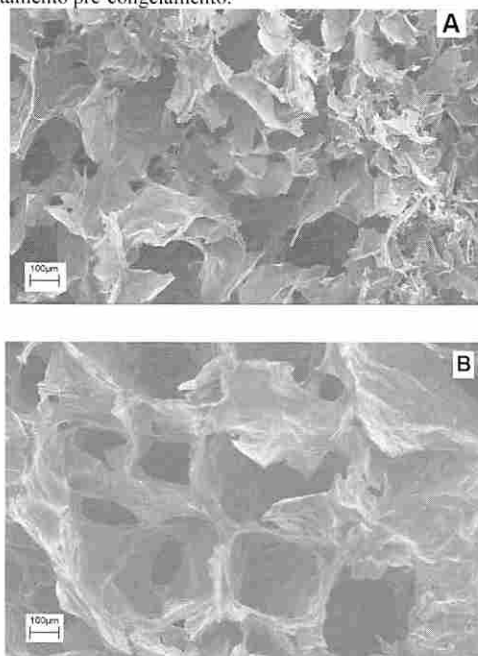


FIGURA 6 - Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura de frutas de melão após descongelamento, tratadas com concentração de 10 g de amido /100 mL de solução, 20 g de glicose/100 mL de solução e pressão de: (A) 84,4 kPa, (B) 50,5 kPa e (C) 16,6 kPa.

CONCLUSÕES

Amido gelatinizado em concentrações específicas desempenha um papel importante na preservação das estruturas, e a eficiência de sua incorporação na microestrutura é função da viscosidade da solução. Esse influencia na proteção das células verificada pela redução na perda de fluido celular por exsudação, redução da perda de textura e obtenção de estruturas mais preservadas, como se pôde verificar nas análises das microestruturas resultantes.

A incorporação mais efetiva de solutos no tecido do fruto ocorre com concentrações de amido gelatinizado em torno de 5 g/100mL de solução.

A pressão é importante na impregnação de soluções de amido gelatinizado de alta viscosidade aumentando a taxa de incorporação e facilitando a penetração de solutos nos espaços intercelulares do fruto.

Em amostras contendo amido gelatinizado, o rearranjo estrutural das moléculas de amido em função da temperatura pode ser verificado pela aderência de grânulos de amido cristalizados junto às estruturas celulares após a liofilização das amostras. As análises microestruturais também mostram que pré-tratamentos com aumento da pressão de vácuo (50,5 e 16,6 kPa) e solução contendo amido gelatinizado preservam a textura de pedaços de melão congelados.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científicos e Tecnológico) pelo auxílio financeiro à pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bombem, H. R. e King, C. J. Heat and mass transport in the freezing of apple tissue. *Journal of Food Technology*, v.17, p.615-632, 1982.
- Fennema, O. R., Powrie, W. D., Marth, E. H. *Low-temperature preservation of foods and living*. New York: Marcel Dekker, 1973.
- Fito, P., Chiralt, A. Vacuum impregnation of plant tissues. In: Alzamora, S. M., Tapia, M.S., Lopez-Malo (Eds). *A design of minimal processing technologies for fruit and vegetables*. Maryland: Aspen Publishers, Inc., 2000, p. 189-204.
- Forni, E., Torreggiani, D., Crivelli, G., Maestrelli, A., Bertolo, G., Santelli, F. Influence of osmosis time on the quality of dehydrofrozen kiwifruit. *Acta Horticulturae*, n. 282, p.425-433, 1987.
- Nieto, A., Salvatori, D., Castro, M. A., Alzamora, S. M. Air drying behavior of apples as affected by blanching and glucose impregnation. *Journal of Food Engineering*, v.36, p.63-79, 1998.
- Resende, J.V, Cal-Vidal, J. Frutos de melão submetidos a pré-tratamentos com hidrocolóides: efeitos do processo de congelamento sobre a microestrutura celular, *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.22, n.3, 2002.

QUALIDADE E TEXTURA DE MORANGOS SUBMETIDOS A TRATAMENTOS PRÉ-CONGELAMENTO COM ADITIVOS E IMPREGNAÇÃO À VÁCUO

Cruvinel, Rafael Souza Ribeiro; Resende, Jaime Vilela de; Mônica Elisabeth Torres Prado

UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA DOS ALIMENTOS

Caixa Postal 3037, CEP37200-000, email: jvresende@ufla.br

LAVRAS/MG - BRASIL

Palavras chave: Morango, Textura, Impregnação à vácuo.

RESUMO

Pedaços de frutos de morango foram submetidos a tratamentos pré-congelamento de impregnação com pressão de vácuo controlada de 16,9; 50,8 e 84,6 kPa em três tipos de soluções constituídas de pectina em concentrações de 0, 1,5 e 3%, adicionados de propionato de cálcio em concentrações de 1, 3 e 5% e açúcar (glicose 20%), durante um período de 4 horas. Após a impregnação as amostras foram congeladas em ar estático com temperatura de -20 ± 2 °C. Tanto na matéria-prima como nas amostras descongeladas foram realizadas medidas de textura, teor de sólidos solúveis e perda de fluido celular. Os resultados mostraram que concentrações intermediárias de pectina e altas concentrações de propionato de cálcio são tratamentos que preservam as características de morangos descongelados.

INTRODUÇÃO

Na avaliação da qualidade dos morangos congelados, as características sensoriais e texturais são os critérios frequentemente utilizados. Nos morangos congelados, a textura é considerada o mais importante índice de qualidade e é também o atributo que sofre maior degradação durante este tipo de processamento (Szesniak & Smith, et al., 1969). Assim sendo, sua manutenção constitui um desafio para os tecnólogos de alimentos.

A impregnação a vácuo é considerada como uma técnica útil para introduzir rapidamente líquidos externos nas estruturas porosas de tecidos de plantas e animais. Como consequência alguns processos de transferência de massa são melhorados e podem ser produzidas alterações nas composições do produto (Zhao & Xie, 2004). A impregnação a vácuo é aplicada com o objetivo de modificar a composição do alimento através da remoção parcial de água e impregnação de solutos sem afetar a integridade estrutural do material (Torreggiani & Bertolo, 2001). Durante o processo há dois fluxos principais simultâneos devido à água e à atividade osmótica do soluto: fluxo da água do alimento na solução de infusão e fluxo dos solutos da solução no alimento (Zhao & Xie, 2004).

Os tratamentos com soluções de açúcares, hidrocolóides e sais de cálcio são indicados para aumentar a resistência da estrutura celular ao congelamento. Grande parte destes compostos atua interagindo com os componentes da parede celular ou reduzindo o crescimento de cristais de gelo, mantendo a integridade da microestrutura após o descongelamento. O complexo pectina-cálcio formado atua como "cimento" intracelular dando maior rigidez para o tecido vegetal (Buescher & Hudson, 1986).

O presente trabalho teve como objetivos analisar os principais efeitos das alterações físicas e físico-químicas decorrentes do processo de impregnação a vácuo sobre a preservação da textura de frutos de morangos após descongelamento. Especificar dentre os tratamentos testados, quais aqueles e quais concentrações de aditivos se mostraram mais efetivas na manutenção das características originais dos pedaços de frutas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Pedaços de frutos de morangos foram obtidos a partir da divisão simétrica no eixo central de morangos frescos. Estes foram submetidos à impregnação com pressão de vácuo

controlada de 16,9; 50,8 e 84,6 kPa em três tipos de soluções constituídas de pectina em concentrações de 0, 1,5 e 3%, adicionados de propionato de cálcio em concentrações de 1, 3 e 5% e glicose 20% durante um período de 4 horas.

As operações utilizadas no processamento dos morangos foram: 1) recebimento da matéria-prima, 2) seleção da matéria-prima, 3) remoção manual do cálice, 4) tratamentos pré-congelamento, 5) repouso por 30 minutos, 6) acondicionamento em sacos de polietileno e 7) congelamento em ar estático.

Determinação do teor de sólidos solúveis totais (SST)

Foi avaliado para o fruto por leitura direta em refratômetro digital (ATAGO – PR100), utilizando suco do morango obtido após a filtração da polpa. O teor de sólidos solúveis foi determinado a partir da equação abaixo:

$$\%SST = \frac{SST_2 - SST_1}{SST_1} \times 100\% \quad (1)$$

Onde SST_1 é o valor de SST na matéria prima; SST_2 é o valor de SST no produto final.

Determinação da textura

A determinação da textura para o fruto do morango foi feita através de testes de compressão uniaxial usando um equipamento de teste universal (TA.XT2 Texture Analyser, Stable Micro Systems). Foi utilizada nos testes a sonda cilíndrica de 6 mm e velocidade de teste de 2,0 mm/s. A perda de textura foi analisada seguindo a equação abaixo:

$$\%Textura = \frac{T_2 - T_1}{T_1} \times 100\% \quad (2)$$

Onde T_1 é o valor da textura na matéria prima; T_2 é o valor da textura no produto final;

Perda de Fluido Celular

O aumento ou a redução de peso dos pedaços de morangos processados foi avaliado através de balanços de massa antes e após o congelamento. A equação abaixo foi utilizada para determinar a perda de fluido celular:

$$\%PFC = \frac{M_2 - M_1}{M_1} \times 100\% \quad (3)$$

Onde M_1 é o valor da massa da matéria prima; M_2 é o valor da massa do produto final;

Impregnação

Na impregnação a vácuo utilizou-se uma câmara hermética acoplada a uma bomba de vácuo como mostrado na Figura 1.

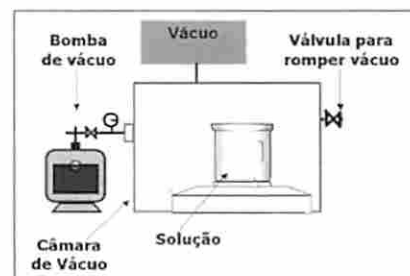


FIGURA 1. Equipamento usado para impregnação à vácuo.

Congelamento em ar estático

Sacos de polietileno contendo os frutos previamente tratados foram congelados em um congelador com ar estático (marca Metalfrío) com temperatura interna de -20 ± 2 °C.

Planejamento Experimental

A Tabela 1 apresenta os fatores e níveis envolvidos nos processamentos seguindo as estruturas dos planejamentos experimentais.

A Tabela 2 mostra a estrutura detalhada do planejamento experimental.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sólidos solúveis totais (SST)

A Tabela 3 mostra a estimativa dos coeficientes de regressão da variação percentual do teor de SST após tratamento dos frutos por impregnação a vácuo e congelamento.

TABELA 1 – Fatores e níveis envolvidos no processamento.

Fatores	Níveis
1- Pectina	1- Concentração 0% (-) 2- Concentração 1,5% (0) 3- Concentração 3% (+)
2- Propionato de Cálcio	1- Concentração 1% (-) 2- Concentração 3% (0) 3- Concentração 5% (+)
3- Pressão	1- Pressão de vácuo - 16,9 Kpa(-) 2- Pressão de vácuo - 50,8 Kpa(0) 3- Pressão de vácuo - 84,6 Kpa(+)

TABELA 2. Planejamento Experimental.

Ensaio	Pectina	Sal de Cálcio	Pressão
1	-	-	-
2	+	-	-
3	-	+	-
4	+	+	-
5	-	-	+
6	+	-	+
7	-	+	+
8	+	+	+
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0

TABELA 3 – Estimativa dos Coeficientes da regressão para teor de SST.

Termo	Coefficiente	P
Constante	2,5681	0,672
Pectina	-5,16968	0,297
P. Cálcio	3,98839	0,066
Pressão	0,15991	0,151
Pectina*Pectina	1,81829	0,217
Pectina*P. Cálcio	2,18424	0,017**
Pectina*Pressão	0,01122	0,705
P. Cálcio*Pressão	-0,00842	0,705

R² = 98,6%

**Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Verifica-se na Tabela 3 que a interação pectina-propionato de cálcio influencia no teor de SST sendo seu coeficiente significativo na regressão ao nível de 5%. O alto valor para o coeficiente de determinação R² (98,6%) evidencia o bom ajuste do modelo matemático.

A Figura 2 mostra a superfície de resposta da variação percentual do teor de SST após o descongelamento em função da concentração de pectina e propionato de cálcio para a pressão de vácuo de 50,5 kPa.

Observa-se na Figura 2 que o aumento da concentração de pectina e propionato de cálcio aumentam o teor de SST no fruto. A pressão não teve influência no teor de SST.

Textura

A Tabela 4 mostra análise de regressão para a textura das amostras após tratamento dos frutos de morango por impregnação a vácuo e congelamento.

A Tabela 4 mostra que a concentração de pectina influencia na preservação da textura de morangos submetidos ao congelamento. Isso porque a pectina atua ou interagindo com os componentes da parede celular ou reduzindo o crescimento de cristais de gelo, mantendo a integridade da microestrutura após o descongelamento. O alto valor para o R² (97,1%) comprova o bom ajuste do modelo matemático.

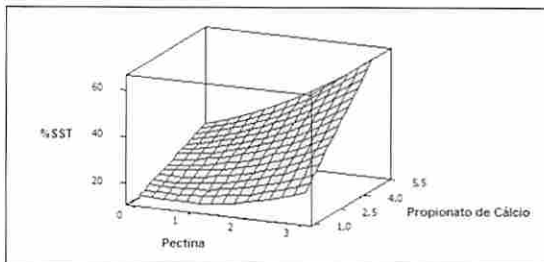


FIGURA 2 - Variação percentual do teor de SST em função da concentração de propionato de cálcio (g/100ml) e de pectina (g/100ml) para a pressão de 50,5 kPa.

TABELA 4 – Estimativa dos coeficientes da regressão para variação da Textura Após Descongelamento.

Termo	Coefficiente	P
Constante	-93,2299	0,000
Pectina	5,889	0,012**
P. Cálcio	0,2039	0,623
Pressão	-0,0048	0,842
Pectina*Pectina	-1,7959	0,010**
Pectina*P. Cálcio	0,2115	0,178
Pectina*Pressão	0,0036	0,647
P. Cálcio*Pressão	0,0083	0,221

R² = 97,1%

**Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

A Figura 3 mostra as superfícies de resposta da variação percentual de textura após o descongelamento em função da concentração de pectina, propionato de cálcio e pressão de vácuo.

Verifica-se nas Figuras 3(A) e 3(B) que em baixas pressões de vácuo, concentrações intermediárias de pectina contribuíram para a manutenção da textura dos morangos. As Figuras 3(A) e 3(B) mostram que existe uma concentração ótima onde a funcionalidade da pectina na preservação da textura de pedaços de morango é mais efetiva. Altas concentrações de pectina produzem soluções com viscosidade alta de difícil impregnação. Em altas pressões de vácuo (Figura 3C) a textura é mais bem preservada com altas concentrações de pectina e altas concentrações de propionato de cálcio.

Perda de Fluido Celular

A Tabela 5 mostra a análise de regressão da variação percentual entre o peso das amostras após descongelamento em relação ao fruto original obtida dos balanços de massa.

A Tabela 5 mostra que a pectina interfere significativamente na perda de fluido celular. A partir das Figuras 4(A) e 4(B) podemos verificar que concentrações intermediárias de pectina também diminuem a perda de fluido celular.

A Figura 4 mostra as superfícies de resposta da variação percentual da perda de fluido celular após o descongelamento em função da concentração de pectina, propionato de cálcio e pressão de vácuo.

CONCLUSÕES

O aumento da concentração de pectina e propionato de cálcio aumentam o teor de SST no produto final. Existem concentrações ótimas para aplicação da pectina e do propionato de cálcio como aditivos onde suas funcionalidades são efetivas na preservação das características de morangos descongelados.

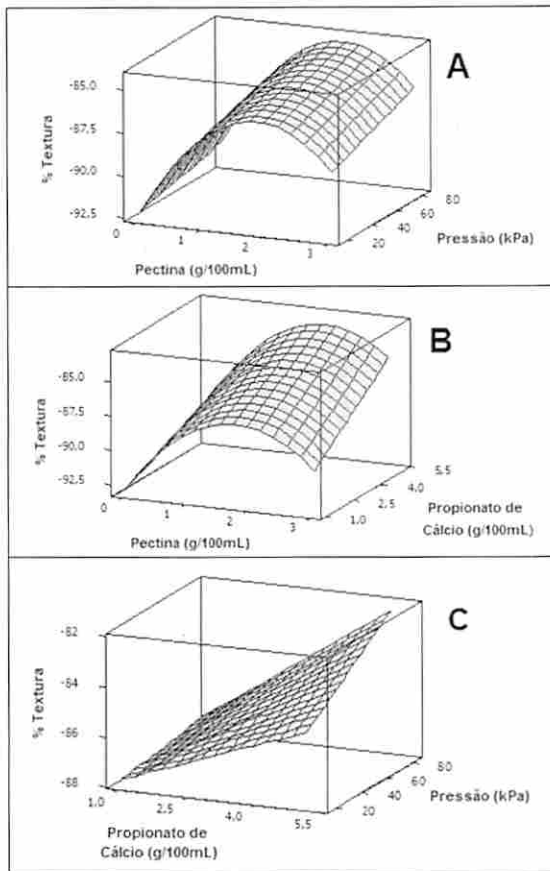


FIGURA 3 - - Variação percentual da textura em função da pressão (kPa) e concentração de pectina (g/100ml) (A), concentração de propionato de cálcio (g/100ml) e pectina (g/100ml) (B) e pressão (kPa) e propionato de cálcio (g/100ml) (C).

TABELA 5 – Estimativa dos coeficientes da regressão para a perda de fluido celular após descongelamento.

Termo	Coefficiente	P
Constante	-26,7567	0
Pectina	5,5194	0,005**
P. Cálcio	0,7201	0,063
Pressão	0,0495	0,044**
Pectina*Pectina	-1,6339	0,004**
Pectina*P. Cálcio	0,2162	0,075
Pectina*Pressão	0,002	0,707
P. Cálcio*Pressão	0,0009	0,808

R² = 92,7%

**Significativo ao nível de 5% de probabilidade

REFERÊNCIAS

Buescher, R. W.;Hudson, J. M. Bound Cations in Cucumber Pickle Mesocarp Tissue as Affected by Brining and CaCl2 *Journal of Food Science* 51 (1), 135-137, 1986.
 Szczesniak, A. S.; Smith, B. J. Observations of strawberry texture a three - pronged approach. *Journal of Texture Studies*. Dodrecht, I (1):65-89, 1969.
 Torreggiani, D.; Bertolo, G. Osmotic pretreatments in fruit processing: Chemical, physical and structural effects. *Journal of Food Engineering*, v.49, p.247-253, 2001.
 Zhao, Y.; Xie, J. Practical applications of vacuum impregnation in fruit and vegetable processing. *Food Science & Technology*, v.15, p.434-451, 2004.

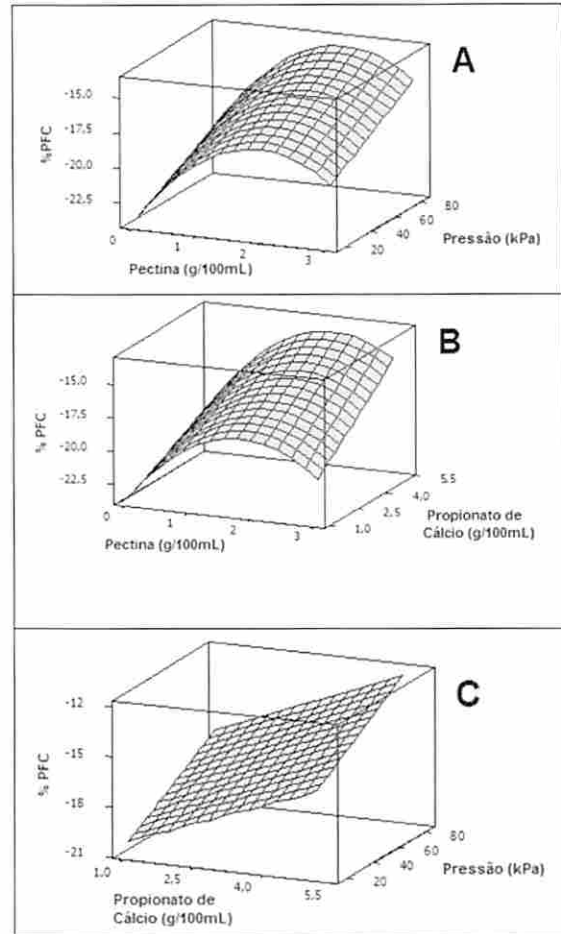


FIGURA 4 - Variação percentual da perda de fluido celular em função da pressão (kPa) e concentração de pectina (g/100ml) (A), concentração de propionato de cálcio (g/100ml) e pectina (g/100ml) (B) e pressão (kPa) e propionato de cálcio (g/100ml) (C).

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA) pelo apoio institucional. A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

VALORACIÓN DE ÍNDICES DE PILADA DE ALGUNAS VARIETADES DE ARROZ COLOMBIANO

Guillermo Salamanca Grosso¹; Mónica Patricia Osorio Tangarife;
Héctor Rene Álvarez Laverde; Oscar Alberto Rodríguez Barragán

¹ GRUPO DE INVESTIGACIONES MELLITOPALINOLÓGICAS Y PROPIEDADES
FISICOQUÍMICAS DE ALIMENTOS.

Facultad de Ciencias Departamento de Química. Universidad del Tolima.

*Barrio Santa Helena Parte Alta. Telefax: +57-8-2669162. Ibagué Colombia. gsalaman@ut.edu.co

Palabras clave: Procesamiento de alimentos y de subproductos. Arroz.. Molinería. Índices de pilada

RESUMEN

Se estudio el comportamiento de 12 variedades de arroz (Caribe 8, Cimarrón Barinas y Pelón, Combeima, Coprocm, Fedearroz 50, 369, 473 y 809, Fortaleza, Oryzica 1 y Yacú 9) en su conducta, rendimiento productivo y generación de subproductos mediante valoraciones para grano integral, harina, masa (grano blanco entero y partido), que constituyen el índice de pilada (IP). Los resultados indican que la variedad Cimarrón Pelón obtuvo un rendimiento en masa blanca del 72.0%, con IP de 63.5% y 50.9 para Fedearroz, así mismo para Yacú 9 y Oryzica 1 60.65, 60.57, 60.30 y 60.07%, respectivamente.

INTRODUCCIÓN

El arroz es un cultivo que alimenta 2/3 de la población mundial. En América Latina se cultivan 9.0 millones de hectáreas: Brasil (56); Colombia (12); Perú (4.0); Venezuela (4.0); y México (3.0) % del total. El consumo aparente de arroz blanco en Colombia durante la última década ha aumentado en forma importante a una tasa anual de 4.6%, pasando de 1.01 millones de toneladas en 1993 a 1.79 millones de toneladas en el 2003 (FAO, 2004) En el país predominan dos grandes categorías en el cultivo del arroz: el mecanizado, donde se emplean máquinas para realizar una o varias labores del proceso productivo del cultivo, y el manual o chuzo, donde sólo se emplea mano de obra en todas las actividades del proceso productivo, Espinal *et al* (2005). La calidad del grano de arroz se puede tomar desde 4 puntos de vista a saber: I) Rendimiento en molinera, II) Comportamiento en la cocción y el procesamiento, III) Valor nutritivo y IV) Estándares específicos como limpieza, entereza y pureza (Luh, 2001).

En todos los procesos de la producción, se requiere supervisar las características finales de los productos bajo condiciones de especificación. En este proceso han de considerarse las desviaciones y la variabilidad excesiva alrededor de las especificaciones. El control de calidad en el proceso de trilla del grano puede agruparse en cuatro operaciones: I).Recepción y clasificación II).Secado y almacenamiento. III).Molienda: Desde la separación neumática, paso a mesas densimétricas, blanqueadores verticales y horizontales, polichadoras y separación de cristal y grano excelso IV).Clasificación y empaque.

La recepción de la materia prima incide hasta en un 80% en las características finales del arroz blanco elaborado por ello deben ajustarse criterios para su aceptación: humedad máxima (14%), impurezas (3.0%) para arroz seco y 24% de humedad para el arroz verde. Estas condiciones aseguran un buen rendimiento en la operación de trilla. El índice de pilada (IP) es un factor que representa características óptimas para la trilla de una variedad de arroz. Valores guía de (IP) superiores al 60% son indicativos de un buen rendimiento y calidad en el proceso.

Los factores que afectan el rendimiento del arroz como grano en tero en el proceso son diversos, Sun & Siebenmorgen (1993), han indicado que uno de los factores que afecta el rendimiento de arroz blanco entero, obedece a la diferencia en el espesor y el grosor de los granos. Estos autores encontraron que la producción de entero se incrementa de manera proporcional al grosor de los granos de arroz, con un aumento en el grosor de los granos, hasta alcanzar un máximo y luego de crece, en consecuencia la fracción de arroz quebrado está asociada a las variedades más delgadas. Adicionalmente si el tiempo de pulido es crucial en el proceso si este es prolongado

se aumenta la producción de grano quebrado (Andrews, 1992; Zeledón & Corrales 1997).

Arrieta (1994) estudio el comportamiento de algunas variedades de arroz costarricense, observando diferencias importantes en el rendimiento y producción de harina en las variedades CR- 1113, CR-5272 y CR-201. El trabajo de Castillo y Gaviria (2000), ha demostrado que en la producción de arroz blanco el precio por el grano entero es superior a la relación 2:1, haciéndose necesario mantener durante la trilla condiciones que permitan mantener reducida la cantidad de grano partido e incrementar la producción de grano blanco entero. Con el objeto de establecer el rendimiento y comportamiento de algunas variedades de arroz colombianas, se ha planteado evaluar sus índices de pilada considerando el rendimiento en blanco entero, partido y producción de harina.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental se realizo en una estación molinera de la zona de Espinal Tolima (Colombia), siguiendo la metodología descrita por Quijano (2000), Cruz (2002), Zeledón, *et al* (2007). Se trabajo con 12 variedades de arroz: Caribe 8, Cimarrón barinas, Cimarrón pelón, Combeima, Coprocm, F-50, F-369, F-473, F-809, Fortaleza, Oryzica 1 y Yacú 9. La unidad experimental fue de milo quinientos gramos de arroz paddy verde que posteriormente fueron secados en Estufa Granel S810TM utilizando temperatura de 38 a 40°C/6h, con el fin de estabilizar el grano entre el 11 al 13% de humedad, con posterior reposo de alrededor de 24 horas con el fin de dar rigidez al grano y permitir la estabilidad en el descascarado y pulimento, realizándolo a cada una de las variedades. La estimación del contenido de humedad, se realiza a cada muestra a través del Motomco 910TM y Kett PQ-510.

El descascarillado se realizo en un equipo Grainman S41ATM que permitió estimar el rendimiento en grano integral. Éste se pulió en la unidad McGillTM generando masa blanca (Entero:Partido E:P) y harina (capa externa del grano). El rendimiento del arroz (RP)trillado se estimó en fase posterior a la homogenización y clasificación mecánica utilizando 100 g de de la relación E:P. A partir de este procedimiento y datos obtenidos se calcula el índice de pilada (IP) de la relación Ec-1. En la figura 1 se muestra la estructura del sistema de trilla de arroz colombiano.

$$\%IP = \frac{RP \times \%GE}{1000}$$

Ec-1

Unidad Experimental 100%			
Arroz Integral 80			
Masa blanca 68			Cascajilla 20
Entero 60	Partido 8.0	Harina 12	

Figura 1. Estructura para los productos de la trilla en arroz colombiano en fracciones porcentuales

En la evaluación de los resultados se realizaron pruebas de normalidad y análisis de varianza. Adicionalmente se aplicó la prueba de Kruskal Wallis para estimar diferencias significativas entre promedios de las variedades y la prueba de Levene para estimar las diferencias significativas entre las varianzas de las variedades. En las pruebas de normalidad para los parámetros se consideró el estadístico de Anderson-Darling. Se usaron los paquetes Minitab 15TM Statgraphics Centurión 15TM en la valoración estadística.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las variedades de arroz estudiadas, presentan heterogeneidad respecto de la humedad inicial, la cual debe ser reducida desde este valor hasta un 12% (P/P), para facilitar el proceso de trilla. Esto se logra a través de una operación de secado que origina arroses con humedades más bajas pero que requieren de reposo, para disminuir la cantidad de arroz partido y merma en la producción. La estandarización permite obtener granos con humedades bajas y estadísticamente similares, sin diferencias significativas entre sí. Sin embargo las varianzas no son significativamente iguales tal como se observa en cada una de las variedades F-369, F-473 y F-809 (Figura 2).

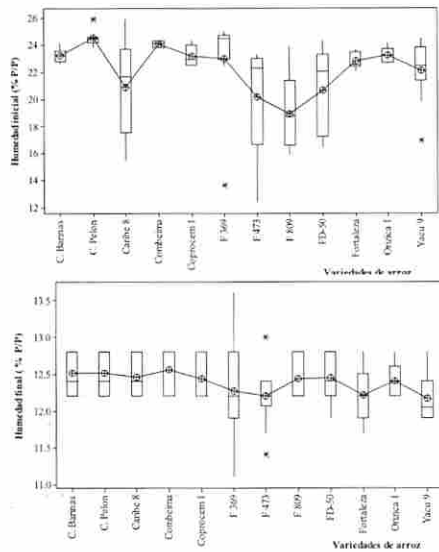
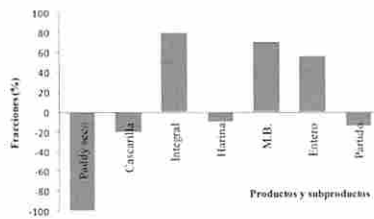


Figura 2. Comparación de humedad inicial y final de las Variedades analizadas.

En el proceso de trilla, luego del descascarillado y la generación del arroz integral, se obtiene el arroz blanco por efectos de polichado, con liberación de harina y masa blanca (grano entero y partido). Zeledón & Mata (1992) señalaron que las condiciones de polichado deben ser fijadas y controladas con precaución puesto que un polichado deficiente arrojará un producto de aspecto indeseable, proclive al enranciamiento, y un polichado excesivo entregará una mayor cantidad de grano partido, convirtiendo el producto final en un subproducto del proceso. Aunque como señala Quirós (2003), las variaciones en el rendimiento de los granos de arroz depende también de las características genotípicas del mismo.

En la figura 3 se recogen los perfiles del rendimiento de trilla de las variedades C. Barinas (A), Yacu -9 (B), F50 (C) y F473 (D).



A

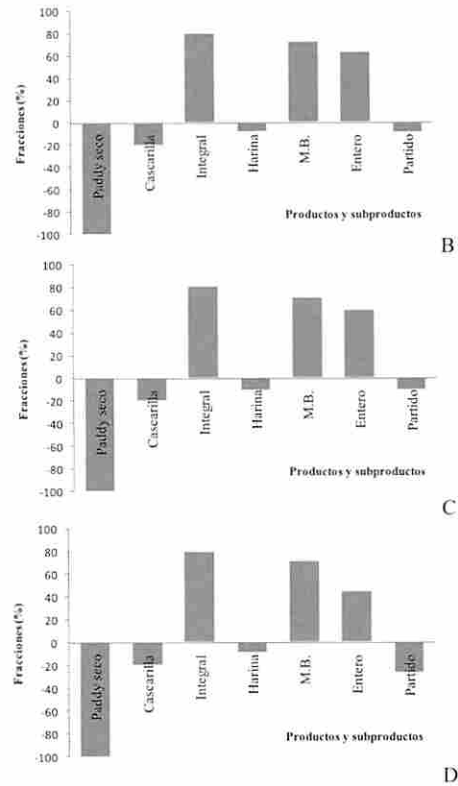


Figura 3. Relación de productos y subproductos de la trilla en el procesado para arroz variedades C. Barinas (A), Yacu -9 (B), FD-50 y F473 (D).

Tabla 1. Valores medios para el rendimiento en masa blanca n g por 100g de muestra

Variedad	Masa blanca	Variedad	Masa blanca
F-473	71.2±0.60	Caribe 8	72.3±1.04
Combeima	70.3±0.45	Coproccem	70.2±0.80
F-369	68.1±1.23	Yacu 9	71.5±0.87
Fortaleza	71.2±1.25	F-50	71.4±0.81
C. Barinas	71.4±0.89	F-809	70.3±1.45
Oryzica 1	70.3±0.86	C. Pelón	72.0±0.68

Tabla 2. Valores medios para el rendimiento del grano entero en g por 100g de muestra

Variedad	Grano entero	Variedad	Grano entero
F-473	67.7±6.69	Caribe 8	83.0±4.36
Combeima	70.4±5.03	Coproccem	83.0±3.32
F-369	80.9±3.31	Yacu 9	84.3±3.37
Fortaleza	78.4±4.68	F-50	85.1±4.50
C. Barinas	82.6±2.55	F-809	86.0±4.01
Oryzica 1	80.8±5.43	C. Pelón	88.1±3.48

El (IP) para las variedades y en general para el total de las muestras analizadas, presenta una distribución que se ajusta al modelo Weibull. (Figura 3)

Tabla 3. Valores medios para el Índice de Pilada de algunas variedades de arroz

Variedad	IP	Variedad	IP
F-473	46,0 ±7,89 ^a	Caribe 8	58,0±4,64 ^a
Combeima	49,5±3,48 ^a	Coproccm	58,4±2,68 ^a
F-369	55,4±2,45 ^a	Yacú 9	60,3±2,90 ^a
Fortaleza	55,5±4,33 ^a	F-50	60,6±3,57 ^a
C. Barinas	56,8±4,24 ^a	F-809	60,6±4,00 ^a
Oryzica 1	56,8±4,24 ^a	C. Pelón	63,5±3,01 ^a

Las variedades con mejores IP se recogen en la tabla 1, con letras se muestran las semejanzas entre ellas así como las de mayor diferencia. La variedad F-473 genera demasiado grano partido

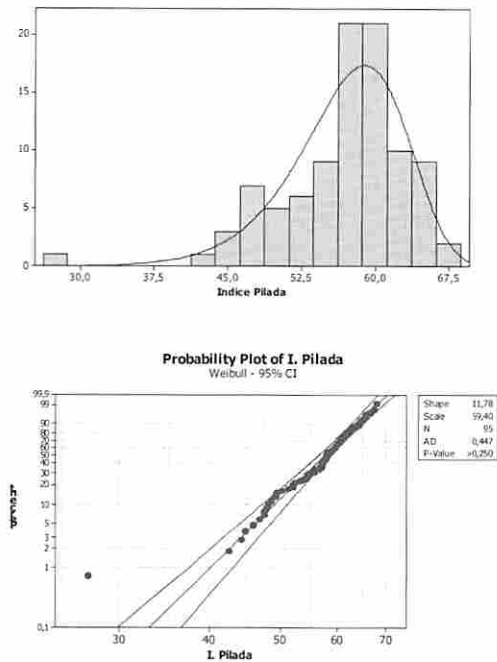


Figura 3. Comportamiento probabilístico del IP ajustado a una distribución de Weibull (p>0.25).

En el proceso el IP de todas las variedades depende de la humedad final, con que entra al proceso de trilla. Se estimó un modelo de regresión donde la variable dependiente es IP y la variable regresora es la humedad final. El modelo estimado es cuadrático (figura 3)

$$IP = [-2229+367.7 HF -14.76 HF^2] \quad Ec-2$$

El análisis de varianza, indica que el modelo es significativo (Pvalor = 0.005) y explica cerca del 30% la variabilidad de los índices de pilada en las muestras analizadas.

Tabla 3. Tabla ANOVA para el modelo cuadrático entre el IP y la humedad final

Fuente	GL	SS	MS	F	P
Regresión	2	720.7	360.4	16.8	0.000
Error	79	1696.8	21.5		
Total	81	2417.5			

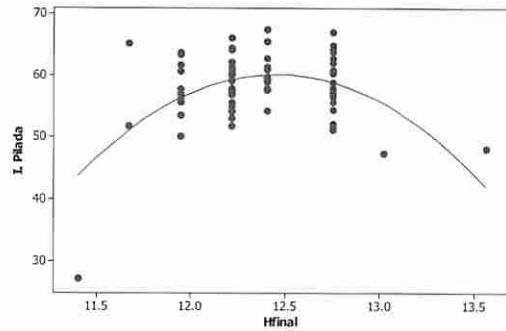


Figura 4. Modelo de regresión estimado entre el IP y la humedad final

A partir del modelo cuadrático podemos concluir que para humedades finales bajas y altas se obtienen IP bajos, y para humedades finales cercanos a 12,4 se pueden obtener IP altos.

BIBLIOGRAFIA

ARRIETA, J. 1994. Metodología para estimar la extracción de las capas externas del arroz integral durante la etapa de beneficiado. Tesis, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

CASTILLO, A; GAVIRIA, J. 2000. "Molinería de arroz en los trópicos," Ediagro. Colombia.

CRUZ, M. 2002. Efecto del beneficiado de mezclas de las variedades de arroz CR-1113, CR-5272 y Setesa-9 sobre variables de rendimiento molinero. Tesis, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

ESPINAL, C.; MARTÍNEZ, H; ACEVEDO, 2005. La cadena del arroz en Colombia. Una mirada global de su estructura y dinámica. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Observatorio Agrociencias Colombia.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT). 2004a. El arroz es la vida (en línea). Roma, IT, FAO. Disponible en: <http://www.fao.org/newsroom/es/focus/2004/36887/index.html>

LUH, B. S. 2001. Rice production. Chpt. 5 in Cereals processing technologies, ed Woodhead Publishing Ltd. New York.

QUIJANO, T. M. 2000. Evaluación e implementación de un modelo de calidad para la normalización del proceso de molienda de arroz. Tesis Ingeniero Agroindustrial, Universidad del Tolima, Colombia.

QUIROS, E. I. 2003. Evaluación morfológica y molecular de líneas avanzadas de mejoramiento genético de arroz (*oryza sativa*) del instituto de investigación agropecuaria de Panamá, (IDIAP). Msc Tesis, Escuela de Posgrado, Programa de Educación para el Desarrollo y la Conservación del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Costa Rica.

SUN, H.; SIEBENMORGEN, T. J. 1993. Milling characteristics of various rough rice kernel thickness fractions. American Association of Cereal Chemists 70(6):727-733.

ZELEDÓN, M.; CORRALES, V. 1997. Efecto del tiempo de blanqueado del arroz en la sobrevivencia de *Rhizopertha dominica*, en la remoción de las capas externas y en el porcentaje de grano quebrado. Agronomía Costarricense 21(2):171-178.

ZELEDÓN, M.; BARBOSA, R. M.; CRUZ, V. M. 2007. Efecto del beneficiado de mezclas de variedades de arroz sobre variables de rendimiento molinero. Agronomía Mesoamericana 18(1): 103-113.

ZELEDÓN, M; MATA, C. 1992 Efecto del secado continuo o en dos etapas y de la temperatura del aire sobre variables de rendimiento molinero en arroz producido en Costa Rica. Agronomía Costarricense 16(1): 91-98. 1992

ESTUDIO DE FORMULACIONES PARA ELABORACIÓN DE ADEREZOS CON AJONJOLÍ

Sánchez-Pardo, María Elena*, Jiménez-García, Epifanio * y Maya-Ocaña, Karina.

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
 ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
 DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA

Plan de Ayala y Prolongación de Carpio. Casco de Sto. Tomas.

Delegación Miguel Hidalgo. México, D. F. Tel. 57296300 Fax. 62359

alimentoselena@hotmail.com *Becario COFAA.**Palabras clave:** ajonjolí, aderezo, sensorial, almidón, xantana.

RESUMEN

A la semilla del ajonjolí (*Sesamum indicum*) se le han descubierto muchas aplicaciones nutraceuticas ya que posee antioxidantes que ayudan a la salud, se han identificado altas cantidades de sesamin y de sesamolina. El consumo de la semilla parece aumentar la actividad de la vitamina E que se cree previene el cáncer y enfermedades cardiacas. El aceite de ajonjolí se utiliza para reducir el colesterol debido a la alta proporción de grasas poliinsaturadas que tiene. Por estas razones, el ajonjolí debe valorarse y consumirse en mayor cantidad incorporándolo como ingrediente en productos que permitan aumentar su consumo como son los aderezos, emulsiones semisólidas de aceite comestible, agua, yema de huevo, vinagre, almidón, gomas comestibles aditivos permitidos y otros ingredientes menores. El presente estudio consistió en la evaluación de diferentes materias a diferentes concentraciones hasta definir el proceso y establecer la formulación para un aderezo. Evaluando sensorialmente las características del producto tanto en su consistencia como sabor y olor, las mejores características se obtuvieron elaborando una emulsión con las siguientes cantidades, de agua, 80 mL; aceite, 25 mL; vinagre, 20mL; yema, 9 g; almidón, 6.0 g; ajonjolí, 8.0 g y especias.

INTRODUCCIÓN

El ajonjolí (*Sesamum indicum*) es una de las plantas más antiguas del mundo. Algunos señalan que es africana específicamente de Etiopía, mientras que otros señalan que es asiática. La producción de oleaginosas en México ha registrado un comportamiento desfavorable en los últimos años, situación que ha provocado un crecimiento en las importaciones de estas para poder satisfacer las demanda interna. Actualmente, la producción de ajonjolí en nuestro país ha mostrado un resurgimiento; sin embargo, ésta aún se encuentra muy lejos de ocupar el lugar que tenía hacia inicios de la década de los ochenta del siglo pasado. (Ortega y Ochoa, 2003)

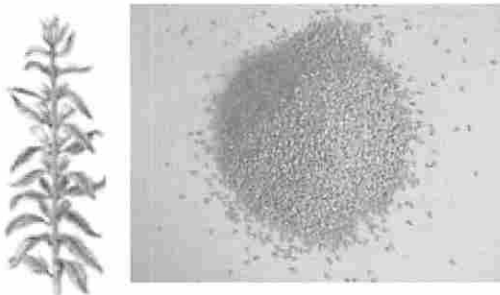


FIGURA 1. (a) Planta de ajonjolí, (b) Semilla de ajonjolí (*Sesamum indicum*)

Si bien es cierto que son varios los estados donde se cultiva esta semilla, los más importantes, por el volumen de su producción, son Sinaloa, Sonora, Guerrero, Oaxaca, Michoacán y Chiapas, quienes producen cerca del 95% de la producción nacional.

La composición promedio varía de una semilla de ajonjolí a otra, pero todas ellas son magnificas fuentes de proteínas, minerales, vitaminas y grasas no saturadas. La composición promedio que manejan Robles (Robles 1982) y Muñoz (1992), respectivamente.

Sobre la composición se tiene lo siguiente en g/100 g de muestra: Humedad 4.19-5.97, Proteína Cruda 16.69-31.56, Extracto Etéreo 45-64 de los cuáles el 21% y el 20% son grasas poliinsaturadas y monoinsaturadas respectivamente, Ceniza Total 5.01-6.14, Carbohidratos 0.00-12.76, Fibra Cruda 2.88-15.70, Calcio 1.32-1.76, Fósforo 1.42-1.78, Niacina en (mg/Kg) 83.97-127.09, Riboflavina en (mg/Kg) 0.484-0.73; entre otros.

EFECTOS FISIOLÓGICOS EN EL HOMBRE CAUSADOS POR EL CONSUMO DE AJONJOLÍ

Se han descubierto muchas aplicaciones nutraceuticas de la semilla de ajonjolí. Las ligninas que posee contienen antioxidantes que ayudan a la salud en el organismo. Se han identificado altas cantidades de sesamin y de sesamolina en el ajonjolí.

El consumo de semilla parece aumentar la actividad de la vitamina E que se cree previene el cáncer y enfermedades cardiacas. El aceite de ajonjolí se utiliza para reducir el colesterol debido a la alta proporción de grasas poliinsaturadas que este tiene. Por estas razones, el ajonjolí debe aprovecharse, y utilizarse para elaborar productos cuyo ingrediente principal sea esta oleaginosa, obteniendo un alimento que además de agradable, brinde un beneficio para la salud por su calidad nutricional.

Es rico en proteínas, fibra, vitaminas como la niacina, riboflavina y tiamina, es fuente excelente de minerales indispensables como el calcio, hierro y potasio, además contiene antioxidantes naturales, provee de un elevado nivel de energía y puede digerirse fácilmente por el organismo, por lo tanto afecta de forma benéfica y contribuye a mejorar la salud, reduciendo el riesgo de padecer enfermedades.

ADEREZOS

Un aderezo se define como una emulsión semisólida de aceite vegetal comestible, agua, yema de huevo, vinagre ó ingredientes acidificantes, y elaborado con o sin almidón comestible ya sea modificado o no, gomas comestibles y otros ingredientes menores y aditivos permitidos. Un aderezo contiene no menos del 30% en peso de aceite vegetal.

JUSTIFICACIÓN

La preocupación más importante para los productores de ajonjolí son los bajos precios pagados en el momento de vender la semilla, que en la mayoría de las veces no cubren los costos de producción. Por esta razón la agricultura por contrato en el caso del ajonjolí no existe, lo cual implica un problema más para el productor que debe buscar dónde colocar su producto en el mercado; así que es conveniente elevar el consumo de esta oleaginoso diversificando su presentación en otros productos. Es ahí donde surge el interés por elaborar aderezos cuyo ingrediente esencial sea el ajonjolí, pudiendo consumirlo de una manera atractiva y sabrosa.

OBJETIVOS

- ❖ Realizar una evaluación de calidad a la semilla de ajonjolí empleada en esta tecnología.
- ❖ Llevar a cabo formulaciones de aderezos conteniendo ajonjolí.
- ❖ Evaluar sensorialmente las formulaciones seleccionadas para su aceptación.
- ❖ Realizar el análisis químico proximal de los productos elaborados.

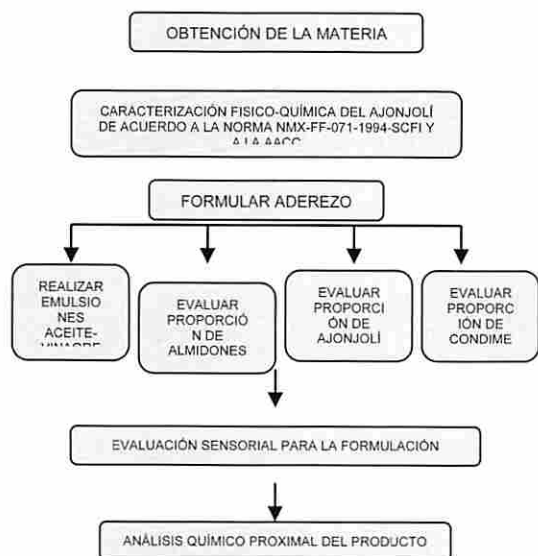
MATERIALES

Ajonjolí entero y descortezado, almidones modificados comerciales de gelificación en frío y en caliente, goma xantana, vinagre, condimentos (ajo, cebolla y sal), productos comerciales de diversas marcas obtenidos en tiendas de autoservicio. Material común de laboratorio. Equipo para las diferentes técnicas de análisis: licuadora, parrilla, mufla, equipo Kjeldahl, balanza analítica y equipo Soxhlet. Reactivos químicos grado analítico.

MÉTODOS

Tanto la materia prima como el producto terminado se analizaron siguiendo las normas NMX correspondientes a la materia prima como al producto terminado (NMX-FF-071 1994-SCFI y NMX-F-341-NORMEX-2006) así como las normas sugeridas para el análisis químico proximal.

DESARROLLO EXPERIMENTAL



RESULTADOS

Con base a los resultados obtenidos en la caracterización físico-química de la semilla de ajonjolí, las pruebas físicas referentes a olor, color, sabor y apariencia de la semilla no tienen problema de encontrarse fuera de norma, ya que sus resultados son muy semejantes a los que se reportan bibliográficamente.

Con respecto a los análisis referentes a aspectos de calidad, se encuentra dentro de lo reportado por la norma NMX-FF-071-1994-SCFI presentando algunas semillas contrastantes y semillas con puntos mientras que no se encontraron semillas extrañas y palos y material extraño dentro de la fracción muestreada.

Por otro lado, los resultados obtenidos en base al análisis químico que se le realizó, ésta semilla se encuentra dentro de los rangos mínimo y máximo que reporta la bibliografía, sin embargo el análisis de humedad realizado mediante el método de la estufa y cenizas indican que está por debajo del intervalo de valores propuestos bibliográficamente; esto se debe a que la semilla utilizada en esta tecnología es descortezada y parte de los componentes mencionados se eliminan al descortezarla.

Para iniciar la formulación de los aderezos, se procedió a trabajar en primera instancia con almidones y gomas puesto que son los aditivos más utilizados en este tipo de productos comerciales para conferirles una característica determinada de consistencia agradable para el consumidor de acuerdo al uso que se le dé a un aderezo fluido. Para dicho fin se comenzó trabajando con dos tipos de almidones: uno que gelifica en frío y otro que gelifica en caliente.



Figura 2. Diagrama de elaboración del aderezo.

Los experimentos que se realizaron en principio fueron soluciones de ambos almidones para tener una idea más precisa de la consistencia que podían impartir con respecto a la cantidad de estos que se manejaba. Las muestras con 6.0% y 6.5% de almidón que gelifica en frío, fueron aquellas aceptadas desde el punto de vista sensorial por su consistencia y tersura que asemejan a un aderezo de tipo comercial.

Cuando se trabajaron los dos tipos de almidones modificados antes mencionados se notaron algunas desventajas por parte del almidón que gelifica en caliente ya que este fue más complicado trabajarlo debido a que necesita una agitación constante para evitar que se formen grumos difíciles de disolver una vez que se está calentando aún cuando se haya hidratado primero.

El vinagre es otro componente importante de un aderezo. Se evaluó la concentración de vinagre que se debe manejar en la elaboración de este producto probando desde un 0% hasta 100% de 20 en 20%, sin que el producto presente una acidez que produzca desagradado al consumidor.



Figura 3. Diferentes formas de presentación de los aderezos.

Después de terminado el experimento, se estableció que una concentración del 20% de vinagre es adecuado desde el punto de vista sensorial, puesto que a mayores concentraciones la acidez era totalmente desagradable al paladar.

Posteriormente, se evaluó la estabilidad de la mezcla de ingredientes que ya se tenía hasta el momento con la adición de aceite. Según la norma NMX-F-341-NORMEX-2006 debe contener un mínimo de 32.5% de aceite vegetal comestible, es por esta razón que en el presente estudio se manejó una adición de 20% de este ingrediente con la seguridad de que al adicionar la semilla de ajonjolí se aumentara este % hasta lo permitido y lo mismo se propuso para la cantidad de yema de huevo que debería adicionarse ya que la norma permite un 3.0% mínimo y en la formulación realizada se estimó alrededor del 6.0%. La presencia de yema de huevo imparte color, es un agente emulsificante y nutritivo por lo que su incorporación es deseable.

A partir de la incorporación de estos últimos ingredientes todas las mezclas presentaron estabilidad, sin cambio y sin indicios del comienzo de alguna separación por parte de las fases continua y dispersa.

A partir de esto se comenzaron a realizar pruebas con algunas gomas como la xantana, CMC y mezclas de las dos anteriores con almidón.

El resultado fue obtenido de manera similar que cuando se manejaron los almidones, es decir, la selección fue realizada en base a la presencia de un aspecto y consistencia muy similar desde el punto de vista sensorial a un aderezo comercial: 0.5 g CMC + 5.5 g almidón, 1.0 g de CMC, 1.5 g CMC, 0.5 g xantana, + 5.5 g almidón, 1.5 g xantana, 1.0 g de xantana, 0.5g xantana + 1.0g CMC, sin embargo, a pesar que todas las cantidades de gomas y almidones seleccionadas eran buenas, se tuvo que elegir una sola concentración de estas para elaborar el aderezo la cual fue 0.5g xantana + 1.0g CMC.

La incorporación del condimento natural ensayado realza y mejora el sabor del aderezo, sin embargo aumenta ligeramente su viscosidad debido a la inulina que contiene la cebolla y el ajo cuya característica es mostrada en todos aquellos alimentos en los que se añade. Su incorporación se encuentra en un 3%.

Por otro lado, para impartirle un color y sabor más agradable al producto se trabajó con chile poblano que se picó finamente y se escaldó por 2 minutos antes de usar y cuya concentración

empleada en dicho producto es del 16.5%.

La incorporación de ajonjolí tostado fue determinada como una fracción entera y otra molida debido a que este último confiere la característica del sabor del ajonjolí propiamente, mientras que la semilla tostada entera principalmente tiene la función de mejorar el aspecto del aderezo para el consumidor puesto que a pesar de estar presente adjudica tal sensación de sabor suigénis al consumir el producto. La concentración manejada es del 6.0%

Finalmente, se procedió a realizar una evaluación sensorial apoyada de una escala hedónica de 9 puntos para determinar la aceptación del producto. Con lo cual se obtuvo una calificación de: Me gusta moderadamente.

A partir de esto, se comenzó el análisis químico proximal del aderezo, el cual arrojó los siguientes resultados: Humedad 74.41%, Cenizas 0.7969%, Proteínas 0.42%, pH 3.4.

CONCLUSIONES

Cada uno de los agentes "espesantes" imparte una consistencia diferente por lo que es necesaria la combinación de estos. Desde el punto de vista sensorial, la presencia de vinagre es indispensable para la elaboración de un aderezo.

La presencia de aceite imparte una característica suigénis al aderezo, y es un ingrediente esencial de estos productos. La incorporación de la semilla de ajonjolí debe ser tanto molida como entera para proporcionar tanto sabor como una apariencia agradable a la formulación.

BIBLIOGRAFÍA

- Lomelí, A. 1997. El mundo de las salsas y los aderezos. Colección Biblioteca del Consumidor. México. Editorial Prometeo Libre. pp 7-25,107,151-184.
- Norma Oficial Mexicana NMX-FF-071-1994-SCFI. Productos no industrializados para uso humano oleaginosas – ajonjolí (*Sesamum indicum L.*) – especificaciones y métodos de prueba.
- Norma Oficial Mexicana NMX-F-341-NORMEX-2006. Aderezo con mayonesa.
- Ortega, C. y Ochoa, R. 2003. El Ajonjolí en el entorno internacional. "Claridades Agropecuarias". Apoyos y servicios a la comercialización Agropecuaria, pp.31-45.
- Robles, R. 1982. Producción de Oleaginosas y Textiles. Ed. Limusa. México. pp.255

TERMOPROCESO DE MEZCLAS DE PURÉ DE ZANAHORIA Y PAPAYA VAR. MARADOL EN UN INTERCAMBIADOR DE CALOR DE SUPERFICIE RASPADA Y SU EFECTO SOBRE LA CALIDAD DEL PRODUCTO

Llano López, S. E., Cruz y Victoria, Ma. T., Osorio Revilla, G. I., Santiago Pineda, T.
Departamento de Graduados e Investigación en Alimentos, ENCB, Instituto Politécnico Nacional, Prol.
Carpio y Plan de Ayala s/n, México, D.F. 13440, MEXICO; e-mail: tsantiag@encb.ipn.mx

Palabras claves: termoproceso, zanahoria, papaya, papaína.

RESUMEN

El procesamiento de alimentos densos como los purés de frutas y hortalizas, por su consistencia, requieren del empleo de equipos especiales que conserven sus propiedades nutricias y sensoriales. Este trabajo presenta los resultados obtenidos al procesar diferentes mezclas de purés de zanahoria y papaya en un intercambiador de calor de superficie raspada (ICSR), escala piloto con capacidad de 20 litros/h; se utilizó como medio calentamiento aceite térmico. Las corridas experimentales siguieron un diseño factorial de 2^2 con dos repeticiones para cada experimento, en donde las variables fueron la velocidad de rotación de los raspadores y la composición de las mezclas, con tres repeticiones en el punto central del diseño. Las variables de respuesta fueron: la temperatura del puré a la salida del intercambiador y la calidad del producto, utilizando como indicadores de calidad la actividad residual de las enzimas papaína, peroxidasa y la retención de vitamina C. El flujo de alimentación (F) y la temperatura de calentamiento (Tc) se mantuvieron constantes a 250mL/min y 145°C respectivamente. Se encontró que para la mezcla de 40-60 (zanahoria-papaya) y velocidad de los raspadores de 100 RPM hubo una retención de 97% de vitamina C, 77% de papaína (P) con actividad residual de la peroxidasa del 3% y temperatura del puré a la salida (Ts) de 78°C. La misma mezcla tratada a 200rpm, dio una temperatura de salida de 80°C y los porcentajes retenidos fueron de 92% de Vitamina C, 68% de papaína y 0 % de peroxidasa (PO), el tiempo de residencia teórico fue de 2.5min para todas las corridas.

INTRODUCCIÓN

El consumo de frutas y vegetales en la dieta humana es de vital importancia por el aporte de vitaminas, minerales, fibra, agua, y otros nutrientes, además de la satisfacción de consumir un producto de características sensoriales tan variadas y agradables. Para aprovechar estos productos a largo plazo es necesario transformarlos empleando diferentes métodos de conservación, de tal forma que en alimentos perecederos, las reacciones químicas y bioquímicas son reducidas con el fin de conservar al máximo su calidad nutricia y sensorial.

La papaya es fuente de carotenoides, vitaminas y minerales así como de fibras solubles como la pectina que junto con la papaína le comunican propiedades funcionales que ayudan a la digestión de los alimentos ricos en proteínas como son las carnes (Nagy, 1980, Díaz, 1984); además la papaya contribuye de manera importante a cubrir las necesidades diarias de vitamina C de un adulto y al mismo tiempo proporciona pequeñas cantidades de calcio y hierro (ASERCA, 1999).

Por otro lado, la zanahoria es una de las hortalizas que mayores beneficios aporta a la alimentación humana, por su contenido de fibra (ASERCA, 2000), además de ser bien conocida como fuente de beta-caroteno, precursor de la vitamina A (Isler, 1971; Simpson, 1983). En este trabajo se realizaron mezclas de estos dos alimentos para complementar su valor nutricional en cuanto a contenido de insoluble y pro vitamina A con la zanahoria y el aporte de papaína, fibra soluble y vitamina C contenidas en la papaya.

El tratamiento de mezclas de puré de estos dos componentes evita la sinéresis que se presenta al procesar sólo puré de zanahoria (Flores, 2005). El objetivo de este trabajo fue la conservación de las propiedades de éstas mezclas usando un

ICSR para su procesamiento térmico, en el cual la calidad de los productos tratados está influida directamente con el comportamiento del flujo del material a tratar y la distribución de tiempos de residencia (Mabit et al., 2004). Los tiempos promedio de residencia (TPR) se calculan con la siguiente relación, según Levenspiel (1997):

$$TPR = \text{Volumen de carga} / \text{Flujo de alimentación}$$

Por lo anterior, en este trabajo se calculó el tiempo teórico de residencia y se determinaron como parámetros de calidad, la retención de la vitamina C y la actividad residual de las enzimas papaína y peroxidasa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales.

Se usó como materia prima zanahoria (*Daucus carota*) variedad Nantes y papaya (*Carica papaya*) variedad Maradol, que fueron adquiridas en el mercado local. Para el tratamiento térmico se utilizó un Intercambiador de Calor de Superficie Raspada (ICSR) de escala piloto, con capacidad máxima de proceso de 20 L/h. Este equipo cuenta con 3 cuerpos de acero inoxidable de 52cm de largo y un volumen de 643cm³, con 0.085m² de área de calentamiento, es de tipo horizontal, conectados en serie, que permiten 3 etapas; con una configuración de flujo en contracorriente. En el interior de cada cuerpo gira un rotor de 2.6cm de diámetro, con 9 unidades de raspado de teflón de 6.5cm x 2.3cm, colocadas en dos hileras de manera alternada a lo largo del mismo. Durante el estudio se utilizó únicamente el primer cuerpo del ICSR.

Métodos.

Los purés de zanahoria y de papaya fueron preparados en una picadora-mezcladora (cutter). Antes de mezclar, el puré de zanahoria se combinó con 50% de jugo de zanahoria para facilitar su manejo en el ICSR. Las corridas experimentales siguieron un diseño factorial de 2^2 en donde las variables fueron la velocidad de rotación de los raspadores (RR) y la composición de las mezclas de zanahoria (Z) y papaya (Py), con tres repeticiones en el punto central del diseño.

Las respuestas fueron: la temperatura del puré a la salida del intercambiador (Ts), el grado de retención de vitamina C, actividad residual de las enzimas papaína (P) y peroxidasa (PO). El flujo de alimentación (F) y la temperatura de calentamiento (Tc) se mantuvieron constantes a 250mL/min y a 145°C respectivamente. A la salida del intercambiador de calor se midió la temperatura de la mezcla y se tomaron muestras para determinar el grado de retención de la vitamina C (Rangana, 1986), la actividad residual de las enzimas papaína (Kunitz, 1947) y peroxidasa (Worthington, 1961). La preparación del extracto enzimático se llevó a cabo usando una solución de NaCl al 5% (Ortega, 1986).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Se observó una diferencia en cuanto el contenido de las enzimas peroxidasa (Figura 1), papaína (Figura 2) y la vitamina C (Figura 3) tomadas como parámetro de calidad para las mezclas utilizadas en este trabajo.

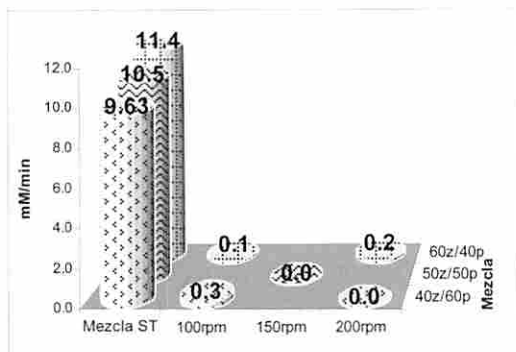


Figura 1. Actividad de la enzima Peroxidasa, dada en milimoles de peróxido /minuto, antes y después de su procesamiento en el ICSR según diseño experimental.

La enzima peroxidasa (Figura 1) presenta una relación directamente proporcional con la cantidad de puré de zanahoria en cada mezcla ya que es la enzima de mayor presencia en esta hortaliza, aunque también se encuentra en la papaya (Garces, 1963). En el caso de esta enzima se busca inactivarla, ya que representa un agente deteriorador para el alimento, afectando a una serie de componentes determinantes de la calidad del mismo (Hemeda & Klein, 1991); sin embargo, al comparar la corrida 60/40 con la 40/60 trabajadas con los raspadores a 100 RPM se encuentra que la actividad residual de la peroxidasa (PO) es mayor en la segunda con 0.3 milimoles de peróxido comparada con los 0.1 milimoles de la segunda. La primera alcanzó una temperatura a la salida de 80°C en tanto que la segunda llegó sólo a 78°C (Tabla1), esto aparentemente debido a que al aumentar el porcentaje de puré de papaya en la mezcla, aumenta la viscosidad de la misma afectando entonces la velocidad de transferencia de calor en el ICSR. La corrida con 40-60 y 200 RPM, la temperatura de salida fue de 80°C con destrucción total de la peroxidasa como se puede ver en la Figura 1.

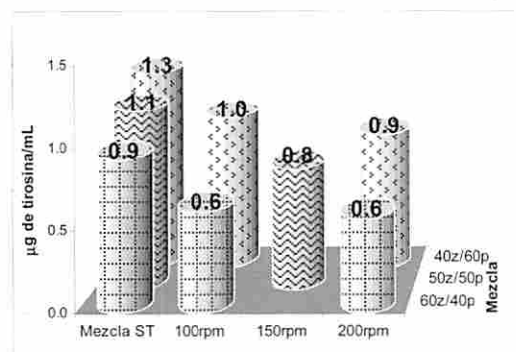


Figura 2. Actividad de la enzima Papaina dada en microgramos de tirosina /mililitro antes y después de su procesamiento en el ICSR según diseño experimental.

Con respecto a la papaina, se puede observar en la figura 2, su decremento cuando aumenta la cantidad de puré de zanahoria en la mezcla y disminuye la de papaya, siendo estos datos correspondientes a lo reportado en la bibliografía por el contenido de papaina, en la papaya (Chan et al, 1978). Contrario al caso de la peroxidasa donde se busca la destrucción de esta enzima, en la papaina se busca el mayor porcentaje posible de retención en el producto, por los beneficios que otorga al consumidor, como la mejora de la digestión. Se puede observar que la actividad residual de esta enzima para el caso de las corridas 60-40 y 40-60 trabajadas a 200 RPM en donde la actividad residual fue de 0.6 y 0.9 mg/100g de producto; sin embargo, los porcentajes correspondientes son de 67 y 69 respectivamente como se puede ver en el cuadro 1 lo que revela poca diferencia en los resultados, salvo en el caso de la peroxidasa en donde se aprecia una destrucción total en la segunda. En cambio para la

mezcla 40-60 trabajada a 100RPM retiene un porcentaje de 77% de papaína debido a que la temperatura alcanzada fue de 78°C, pero con 3% de actividad residual de la peroxidasa.

En el caso de la vitamina C (Figura 3), al igual que en la papaina, se observa que hay decremento de este parámetro de calidad, cuando el porcentaje de puré de zanahoria en la mezcla es mayor que el porcentaje de puré de papaya. La retención de vitamina C es la misma para la mezcla 40-60 para las dos velocidades de los raspadores.

Para el caso de los raspadores trabajando a 100 RPM la cantidad de vitamina C retenida fue de 39.4 miligramos por 100g de muestra comparada con 40.8 contenida en la muestra fresca antes de tratarla térmicamente en el ICSR lo que corresponde a un porcentaje de retención del 97%. Al trabajar a 200RPM, la retención se redujo a 92% de Vitamina C como se puede observar en el cuadro 1, pero con la ventaja de haber eliminado totalmente la actividad de la peroxidasa. Debido a la capacidad antioxidante de la vitamina C (Moure et al., 2001), que otorga beneficios al organismo humano, es importante mantenerla en el producto procesado. La vitamina C es un parámetro generalmente usado como indicativo de calidad en tratamientos térmicos por ser sensible al calor (Günes and Bayindirli, 1993).

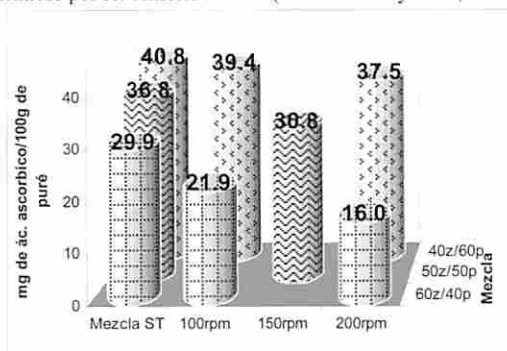


Figura 3. Cantidad de vitamina C, dada en miligramos de ácido ascórbico presente en 100g de mezcla, antes y después de su procesamiento en el ICSR según diseño experimental.

En la Tabla 1 se observan las temperaturas alcanzadas por cada mezcla y los porcentajes de retención de los parámetros de calidad estudiados, a las diferentes velocidades de rotación de los raspadores, para una temperatura de calentamiento de 145°C, flujo del material de 250mL/min; y tiempo promedio de residencia de 2.5min, para todas las corridas realizadas.

Tabla 1. Temperatura a la salida, porcentajes de retención Vitamina C y actividad de la papaína y peroxidasa, según condiciones de mezclas de los purés de zanahoria y papaya, y velocidad de los raspadores (RPM)

Mezcla Z-Py / RPM	Ts °C	Vit C %	P %	PO %
60-40 /100	80	73	67	1.0
60-40 /200	82	54	67	2.0
40-60 /100	78	97	77	3.0
40-60 /200	80	92	69	0.00
50-50 /150	83	84	73	0.00

También, en el Tabla 1, se observa que para el caso de las mezclas 60/40 y 40/60, tratadas a 100 y 200RPM, temperatura de salida fue incrementada por la velocidad de rotación de los raspadores, alcanzándose 78°C a 100 RPM y 83°C a 150 RPM. Es notorio, cómo la composición de las mezclas influye en la temperatura alcanzada a la salida del ICSR ya que, como se puede ver, para una misma velocidad de rotación de los raspadores resultó mayor la temperatura de salida para mezcla con mayor contenido de zanahoria siendo menor por 2±0.6°C de temperatura de salida para la mezcla 40/60 (mayor viscosidad) con respecto a la mezcla 60/40 (menor viscosidad). Lo anterior es probablemente debido a la diferencia en la consistencia que brinda a la mezcla el puré de papaya, por su contenido de pectina.

En la Tabla 1 nuevamente se puede observar que la disminución de la actividad enzimática está relacionada con el aumento de temperatura de salida. La mayor temperatura alcanzada a la salida fue 83°C por la mezcla 50/50, a velocidad de rotación de raspadores de 150rpm, en la cual se logró inactivar la enzima peroxidasa con retención de papaina de 73% y 84% de vitamina C. Se ha reportado que la actividad enzimática depende de la temperatura y el tiempo de tratamiento, teniendo que la cinética de inactivación térmica de la peroxidasa están en el intervalo de 70-100°C dependiendo del vegetal tratado (Morales-Blancas, y col., 2002). Flores, 2005, encontró que para el puré de zanahoria la inactivación de esta enzima en el ICSR se logra a una temperatura de salida de 84.5°C a $T_c=135^\circ\text{C}$, $F=180\text{ml/min}$ y una velocidad de raspadores de 30rpm, siendo su tiempo de residencia promedio de 3.5min.

Las temperaturas que se alcanzan en el tratamiento de las diferentes mezclas entran dentro de los rangos mencionados en la bibliografía para otros tratamientos térmicos; sin embargo, para el ICSR se reporta en la literatura una temperatura mayor a la que se alcanzó en este trabajo, lo cual aunado al menor tiempo de residencia promedio obtenido (TPR=2.5min), no se logra la inactivación de esta enzima por completo en todas las corridas realizadas. Por otro lado, los resultados obtenidos en esta investigación indican que es difícil mantener la enzima papaina activa al someterla a un tratamiento térmico, además de que es inhibida por iones metálicos, oxidantes y por agentes que reaccionan con los tioles (ácido ascórbico). En cuanto a la disminución de vitamina C, se reporta que su oxidación es acelerada por el calor (Günes and Bayındır, 1993), pero la retención de estos dos últimos indicadores en este trabajo es considerable en todas las corridas.

CONCLUSIONES

Las mezclas presentan diferencias en cuanto al contenido de las enzimas peroxidasa y papaina y la cantidad de vitamina C, con respecto a la composición de cada mezcla.

El aumento en la velocidad de los raspadores y la composición de las mezclas permite el aumento de la temperatura de salida del producto, lo cual influyó en la actividad residual de las enzimas estudiadas y la retención de vitamina C.

La mejor condición encontrada corresponde a mezcla 40% de puré de zanahoria con 60% de puré de papaya procesada a 200RPM por retener el mayor porcentaje de Vitamina C y papaina y destruir al 100% a la peroxidasa.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al Instituto Politécnico Nacional y al Programa IPN-PIFI el apoyo recibido a través del proyecto CGPI 20060024

REFERENCIAS

- ASERCA. 1999. Claridades agropecuarias. Papaya y Maíz. Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria. Ed. Abriendo Surcos. SAGARPA. No. 67. México.
- ASERCA. 2000. Claridades agropecuarias. Zanahoria y algodón. Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria. Ed. Abriendo Surcos. SAGARPA. No. 79. México.
- Chan, H.T. Jr., Tam, S.Y.T. and Kojde, R T. 1978. Isolation and characterization of catalase from papaya. *J. Food Sci.* 43:989.
- Díaz, O. 1984. Boletín de Reseñas, Cítricos y otros frutos, 15, 7.
- Flores, L. Y. 2005. Termoprocamiento de puré de zanahoria en intercambiador de calor de superficie raspada piloto y efectos sobre sus carotenoides. Tesis de Maestría. IPN-ENCB; México.
- Garces, M.M. 1963 Citado por Czyhrinciw, N.N. 1969. Tropical fruit technology, Adv. In *Food Res.* 17:184.
- Günes, B. and Bayındır, A. 1993. Peroxidase and lipoxygenase inactivation during blanching of green beans, green peas and carrots. *Lebensm Wiss u Technol.*, 26, 406-410.
- Hemeda, H.M., & Klein, B. P. 1991. Inactivation and regeneration of peroxidase activity in vegetable extracts treated with antioxidants. *J. Food. Sci.*, 56, 68-71.
- Isler O. 1971. Carotenoids. Stuttgart: Birkhäuser Verlag Basel.
- Kunitz, M. 1947. Crystalline Soybean trypsin inhibitor II. General properties. *J. Gen. Physiol.* Modificado: Ortega y del Castillo, 1966.
- Levenspiel, O. 1997. Capítulo 9. Flujo no ideal. Ingeniería de las reacciones químicas. 6ª reimp. Reverté Ediciones. México.
- Mabit, J., Loisel, C., Fayolle, F., Legrand, J. 2004. Relation between mechanical treatment of starch and flow conditions in a scraped surface heat exchanger. *Food Research International* 37; 505-515.
- Morales-Blancas, E.F., Chandía, V. E., & Cisneros-Zevallos, L. 2002. Thermal inactivation kinetics of peroxidase and lipoxygenase from brócoli, green asparagus and carrots. *J. Food Sci.* 67, 146-154.
- Moure, A., Cruz, M.J., Franco, D., Domínguez, M.J., Siniero, J., Domínguez, H., Nuñez, J.M., 2001. Natural Antioxidants from residual sources. *Food Chemistry.* 72:145-171.
- Nagy, S. and Shaw, P.E. 1980. Tropical and subtropical fruits: composition, properties and uses. Ed. AVI Publ.Co. Westport, CT.
- Ortega, L.H.; et al. 1986. Manual de prácticas de bioquímica. Colegio de Posgraduados. Chapingo. México.
- Ranganna, S. 1986. Handbook of analysis and quality control for fruit and vegetable products. 2a ed. Ed. McGraw Hill Publishing Co. New Dehli.
- Simpson K. L. 1983. Relative value of carotenoids as precursors of vitamin A. *Proc Nutr Soc.* 42: 7-17.
- Worthington. 1961. Worthington Manual. Ed. Worthington Biochemical Corporation. Vol 11. USA.

ESTUDO COMPARATIVO DA ACIDIFICAÇÃO DO LEITE BUBALINO E CAPRINO EM RELAÇÃO AO LEITE BOVINO

Clementino I.¹, Nascimento J. W. do², Silva P. D. L. da⁴, Medeiros A. C.¹, Sousa B.² & Correia R. T.P.^{3*}.

¹ Alunos do curso de graduação em Zootecnia da UFRN

² Mestrandos em Engenharia Química, PPGEQ - UFRN.

³ Professora Adjunta II do Departamento de Agropecuária, UFRN. Natal-RN.

⁴ Doutoranda em Engenharia Química, PPGEQ – UFRN e bolsista CNPq. Centro de Tecnologia, Campus Lagoa Nova. 59072-970.BRASIL. E-mail: robtargino@eq.ufrn.br

Keywords: iogurte, acidificação, leite, cabra, búfala.

RESUMO

Os leites provenientes de cabras e búfalas oferecem características tecnológicas peculiares, além de reconhecido valor nutricional e organoléptico. No entanto, o potencial de aproveitamento destes produtos tem sido subutilizado, com reflexo na escassez de produtos derivados existentes no mercado. No caso específico da produção de iogurte, que tem a acidificação como etapa central, grande parte dos trabalhos é essencialmente tecnológico em sua natureza, ou seja, aborda simplesmente a obtenção e análise química e sensorial do produto obtido. Sendo assim o presente trabalho teve como objetivo analisar o comportamento de acidificação do leite bubalino e caprino, comparativamente ao leite bovino. Foram avaliadas as curvas de acidificação do leite bovino, bubalino e caprino, além do acompanhamento das características organolépticas. Observou-se que o leite de búfala apresenta coágulo firme e acidificação mais rápida quando comparado ao leite bovino, ao passo que o leite caprino apresentou período de incubação mais longo e formação de coágulo frágil e com tendência a sinerese.

INTRODUÇÃO

O iogurte é um tipo de leite fermentado conhecido desde tempos remotos. Tem grande aceitabilidade pelo mercado consumidor por encerrar características organolépticas agradáveis, excelente valor nutritivo, boa digestibilidade, além de ser recomendado terapêuticamente. É produzido mediante a acidificação do leite pelas bactérias lácticas *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, apesar de que a legislação permite que além destas bactérias estejam presentes também outros grupos de microrganismos (BRASIL, 2000). Durante a produção do iogurte, esses microrganismos mantêm-se em crescimento associado, predominando efeitos de simbiose no começo, e antibiose no final do processo (FERREIRA, 2005). A acidificação provocada pelas bactérias lácticas é um processo no qual os microrganismos metabolizam a lactose do leite, lançando produtos e metabólitos secundários no meio. O *Streptococcus thermophilus* em forma cocácea é disposto em cadeias e produz lactato, acetaldeído e diacetil, enquanto o *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* é uma bactéria de forma bacilar que se apresenta de forma individualizada ou em cadeias curtas, produz lactato e acetaldeído (ORDONEZ *et al.*, 2005). Durante o processo de acidificação acontece efetivamente a coagulação do leite, que como consequência ocasiona mudanças dramáticas na reologia e estrutura do leite (LUCEY e SINGH, 1998). É de fundamental importância para a produção do iogurte, tendo em vista que além do ácido propriamente dito, são formadas substâncias que modificam o *flavour* e a textura do iogurte (JUMAH *et al.*, 2001), gerando as características desejadas no produto final (ANDRADE, 2005). Vários fatores influenciam a condução da acidificação dentre eles o tipo de microrganismo utilizado, o tipo de leite, a temperatura de incubação, adição de sólidos, dentre outros (GASTALDI *et al.*, 1997; BRABANDERE e BAERDEMAKER, 1999).

No Nordeste são produzidos atualmente leite bovino, caprino e bubalino. O leite bovino tem sido tradicionalmente explorado tanto na forma líquida, quanto na produção dos mais diferentes

derivados. No entanto, o mesmo não acontece com o leite caprino e bubalino.

Segundo a FAO (2006) a produção brasileira contabiliza 135.000 toneladas anuais de leite de cabra e tem se mantido estável nos últimos anos. Esta produção tem se concentrado historicamente na região Nordeste, na qual a criação caprina adapta-se bem às condições climáticas e geográficas. O ANUALPEC (2006) mostra que das 11.460.735 cabeças de rebanho caprino nacional, 10.632.816 estão no Nordeste e 475.327 no Rio Grande do Norte. Outro aspecto relevante sobre o leite de cabra é seu grande potencial nutricional, além de poder ser utilizado como alternativa láctea para indivíduos alérgicos ao leite de vaca (PARK, 1994; RAYNAL-LJUTOVAC *et al.*, 2005). A criação caprina exerce além do papel econômico, forte função social, já que estimula a fixação do homem no campo e fornece alimento para famílias que praticam a caprinocultura como forma de subsistência. Por outro lado, no estado do Rio Grande do Norte existe a produção de leite bubalino, utilizado, sobretudo para a produção de queijos e outros derivados. A literatura é escassa no que diz respeito a trabalhos sobre a produção industrial de iogurte bubalino, mas existem alguns relatos que mostram que sua utilização proporciona corpo e textura mais firme ao iogurte (CUNHA NETO *et al.*, 2005).

O presente trabalho pretende avaliar a cinética de acidificação dos leites bubalino, caprino e bovino de forma a entender o comportamento dos mesmos frente à acidificação, de modo a criar subsídios para a produção de iogurte. Para isso serão construídas curvas de acidificação e estudo comparativo será conduzido de forma a avaliar as diferenças observadas entre o leite caprino e bubalino quando comparados ao leite bovino.

MATERIAL E MÉTODOS

O leite de cabra "in natura" utilizado foi doado pela Fazenda Santa Rita, no município de Lages/RN, obtido de cabras saudáveis e em boas condições corporais. Após coleta, foi acondicionado em embalagens plásticas de dois litros e mantido congelado até o uso. O leite pasteurizado de vaca foi adquirido no comércio local. O leite bubalino foi doado pela Fazenda Tapuio, localizado em Taipu-RN. Para a inoculação, utilizou-se cultura liofilizada de *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* produzida pela SACCO.

Os utensílios de aço inoxidável e de vidro utilizados para realização do experimento são previamente higienizados e limpos pela imersão em água fervente. Aqueles de material plástico, sensíveis ao calor, foram cuidadosamente limpos com solução alcoólica comercial.

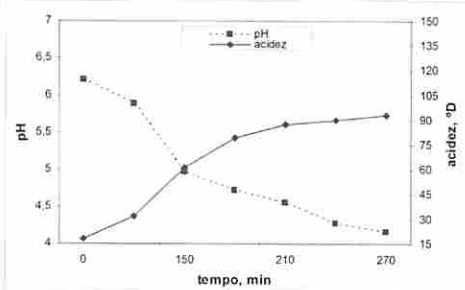
A curva de acidificação foi obtida através do acompanhamento do processo fermentativo dos diferentes tipos de leite, conduzidos da seguinte maneira: a. Inicialmente o leite foi tratado termicamente a 85°C por 15 minutos; b. Em seguida, o leite foi submetido a resfriamento rápido até 45°C; c. Adicionou-se a cultura láctea liofilizada na proporção de 1,5 ml de cultura liofilizada previamente veiculada em leite UHT para cada 500 mL de leite; d. O leite foi incubado a 45°C; e. Amostras foram tomadas a cada 30 minutos, durante períodos de tempo variáveis e dependentes do tipo de leite.

Em cada uma das amostras foram determinados a acidez e pH, além da descrição sensorial, onde foram avaliados os seguintes critérios: odor, consistência, cor, sinerese, presença de grumos e sabor.

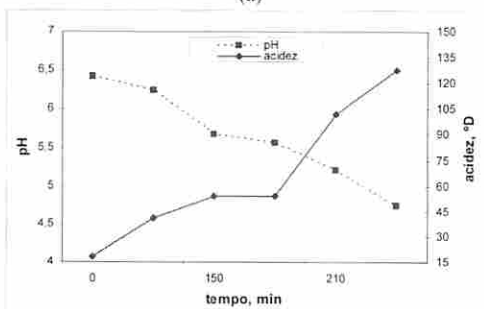
Para a análise de acidez foi transferido 10ml da amostra para frascos Erlenmeyer, onde em seguida foram adicionadas duas gotas de solução alcoólica de fenolftaleína a 1%. A titulação foi efetuada com adição de solução de hidróxido de sódio N/9 até o aparecimento da coloração rósea. As amostras de iogurte foram diluídas na proporção de 1ml de iogurte para 10ml de água destilada. As amostras foram diluídas na proporção de 1ml de iogurte para 10ml de água destilada, previamente à análise. A análise foi determinada em potenciômetro digital.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

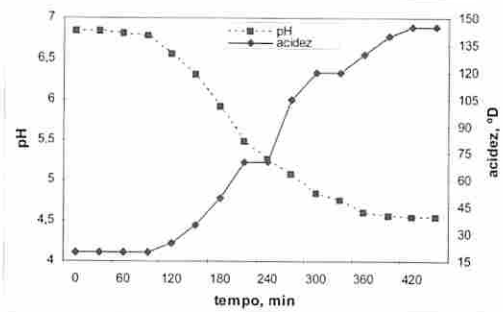
As curvas de acidificação do leite bovino, bubalino e caprino estão mostradas na **Figura 1(a)**, **1(b)** e **1(c)**, respectivamente. Observa-se que o leite bovino apresenta queda gradual do pH e conseqüente aumento da acidez, alcançando pH 4,6 entre 210 e 240 minutos de incubação. O leite bubalino apresenta comportamento semelhante, e atinge o ponto isoelétrico da caseína após aproximadamente 240 minutos de incubação. O leite caprino, no entanto, apresenta comportamento distinto dos dois primeiros tipos de leite. O tempo de incubação necessário para a produção deste tipo de iogurte é superior ao requerido pelo leite bovino e bubalino, sendo necessário um acompanhamento mais longo do processo, com amostras retiradas após até sete horas e meia de incubação (450 minutos). Este mesmo comportamento já foi observado em trabalhos anteriores. Correia *et al.* (2006) estudaram o procedimento de elaboração do iogurte de leite de cabra e observaram que o coágulo formado durante a acidificação do leite de cabra é suave, requerendo condições de processamento diferenciadas para obter o iogurte de características desejadas. Este assunto também foi abordado por Tamine e Robinson (2000), que ressalta que o teor de sólidos totais do leite influencia de maneira importante o processo de obtenção do iogurte.



(a)



(b)



(c)

Figura 1. Curvas de acidificação do leite bovino (a), leite bubalino (b) e leite caprino (c).

As observações visuais estão de acordo com os resultados apresentados na **Figura 1**. Após 210 minutos de incubação de leite bovino, observou-se a formação do odor característico de iogurte, apesar da textura ideal ter sido obtida somente aos 240 minutos de incubação. No caso do iogurte bubalino, a acidificação acontece de maneira mais rápida e após 180 minutos, já é possível sentir sabor levemente ácido e odor característico de iogurte. Após três horas e meia (210 minutos), o iogurte já apresenta consistência firme, ausência de grumos e aspecto característico de iogurte. A observação prossegue apenas até 240 minutos, pois após este período, observou-se que o iogurte apresentava consistência excessivamente firme e sabor ácido pronunciado, chegando a ser indesejado.

Por outro lado, a análise organoléptica do iogurte caprino revela que após três horas de incubação, não é possível observar praticamente nenhuma modificação reológica, e as amostras possuíam ainda sabor e odor característico de leite. Após 270 minutos, ponto que coincide com um aumento pronunciado da acidez, a formação de gel começa a acontecer, prosseguindo pelos próximos 90 minutos. O iogurte apresenta consistência mais firme ao fim de 420 minutos de incubação, mas o coágulo ainda apresentava-se frágil. O coágulo suave apresentou maior tendência a sinerese que os demais tipos analisados.

O iogurte de leite de cabra tem sido apontado como um produto fermentado com coágulo mais aquoso, frágil e com maior grau de dessoragem (TAMINE e ROBINSON, 2000; HASHIMOTO e ANTUNES, 1995). No entanto, vários recursos podem ser empregados para contornar esta situação, entre eles o emprego de culturas lácticas produtoras de exopolissacarídeos, fortificação do leite com sólidos lácteos, utilização do leite de espécies caprinas com maior teor de sólidos totais, além do emprego de tratamento térmico apropriado para uma maior desnaturação proteica (HASHIMOTO e ANTUNES, 1995; GASTALDI *et al.*, 1997; BRABANDERE e BAERDEMAEKER, 1999; ANTUNES, 2003).

O iogurte de leite de búfala, por outro lado, tem sido reportado como produto lácteo de coágulo firme com propriedades peculiares e distintas daquelas encontradas no tradicional iogurte produzido com leite de vaca (CUNHA NETO *et al.*, 2005). Em trabalho recente, Rocha *et al.* (2004) mostraram resultados satisfatórios da aceitação do iogurte de leite de búfala, com a adição de frutos do cerrado (araticum, cagaita e mangaba).

A acidificação é uma etapa de crucial importância para a produção de iogurte, já que este fenômeno induz a coagulação. Horne (1999) faz uma interessante abordagem sobre a formação e estrutura de leites acidificados e ressalta que os leites fermentados são, em essência, géis particulados, formados por agregados de partículas esféricas que formam uma rede contínua. Alguns questionamentos têm sido levantados, sobretudo no que diz respeito ao processo de coagulação em si. Investigações têm sido conduzidas no sentido de esclarecer se o coágulo do iogurte seria formado simplesmente pela precipitação da caseína ao atingir seu ponto isoelétrico, ou se aí estaria implicado um fenômeno que resulta do processo de agregação partícula-partícula.

Jumah et al (2001) investigaram o efeito de diferentes tipos de leite sobre as propriedades reológicas durante o processo de gelatinização. Estes autores afirmam que a composição química do leite, sobretudo no que diz respeito ao teor de sólidos totais e concentração protéica, tem influência marcante sobre as características do coágulo.

CONCLUSÃO

Foram observadas diferenças durante processo de acidificação dos diferentes tipos de leite estudados – bovino, bubalino e caprino. Quando comparado ao tradicional iogurte bovino, o iogurte bubalino apresentou acidificação e coagulação mais rápidas, além da formação de coágulo de estrutura firme e baixa dessoragem. Já o leite caprino, apresentou tempo de fermentação estendido quando comparado aos outros dois tipos de leite, além de apresentar coágulo frágil e com forte tendência a sinerese.

Tendo em vista a importância da etapa de acidificação na produção de iogurte, faz-se necessário o estudo dos parâmetros que governam este processo. O presente trabalho cria subsídios para trabalhos futuros que explorarão a influência de diversos fatores sobre a coagulação do leite, levando-se em consideração as particularidades de cada tipo de leite e a repercussão tecnológica dessas características sobre os produtos lácteos derivados.

AGRADECIMENTOS: Agradecemos a Fazenda Tapuío, Fazenda Santa Rita, Vieira Alimentos e Fermentos SACCO pela gentil doação do material utilizado na pesquisa.

REFERÊNCIAS

- Andrade, C.; Nasser, R. Estudo reológico da gelificação induzida pelo calor de proteínas do soro de leite e dos géis resultantes sob condições variadas de pH. *Ciência Tecnologia Alimentos*, 25(2), p. 315-321, 2005.
- Antunes, A.J. Funcionalidade de proteínas do soro de leite bovino. Barueri, SP:Manole, 2003.
- Anualpec. Anuário da Pecuária Brasileira 2006. São Paulo: Instituto FNP. 2006. 364 p.
- Brabandere, A.; Baerdemaker, J. Effects of process conditions on the pH development during yoghurt fermentation. *Journal Food Engineering*, 41, p. 221-227, 1999.
- Tamine, A.; Robinson, R. *YOGHURT*, Science and Technology. Boca Raton: CRC Press. 2000.
- Brasil. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Resolução n.5 de 13/11/2000. Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 27 de novembro de 2000.
- Correia, R.; Clementino, I.; Bezerra, M.; Silva, P. D. L. da. Avaliação do procedimento utilizado para a elaboração de iogurte de leite de cabra. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 61(351), p. 317-320, 2006.
- Cunha Neto, O.; Oliveira, C.; Hotta, R.; Sobral, P. Avaliação físico-química e sensorial do iogurte natural produzido com leite de búfala contendo diferentes níveis de gordura. *Ciência Tecnologia Alimentos*, 25(3), p. 448-453, 2005.
- Faostat. Fao Statistical basis. Disponível em <faostat.org.br>. Acesso em: 30 de maio de 2006.
- Ferreira, C.L. Produtos lácteos fermentados: aspectos bioquímicos e tecnológicos. Viçosa: UFV, 2005. 112p.
- Gastaldi, E.; Lagaude, A.; Marchesseau, S.; Fuente, B. Acid milk gel formation as affected by total solids content. *Journal Food Science*, 62(4), 1997.
- Hashimoto, E.; Antunes, L. Efeito do tratamento térmico de culturas filantes nas características reológicas do iogurte de leite de cabra. *Ciência Tecnologia Alimentos*, 15(3), p. 255-261, 1995.
- Horne, D. Formation and structure of acidified milk gels. *International Dairy Journal*, 9, p. 261-268, 1999.
- Jumah, R.; Shaker, R.; Jdayil, B. Effect of milk source on the rheological properties of yogurt during gelation process. *International Dairy Journal*, 54(3), p. 89-93, 2001.
- Lucey, J.; Singh, H. Formation and physical properties of acid milk gels: a review. *Food Research International*, 30(7), p. 529-542, 1998.
- Ordóñez, J.A. *Tecnologia de Alimentos: alimentos de origem animal*. Porto Alegre. Artmed, 2005. v.2.
- Park, Y. Hypoallergenic and therapeutic significance of goat milk. *Small Ruminant Research*, 14(2), p. 151-159, 1994.
- Raynal-Ljutovac, K.; Gaborit, P.; Lauret, A. The relationship between quality criteria of goat milk, its technological properties and the quality of the final products. *Small Ruminant Research*, 60(1-2), p.167-177, 2005.

AVALIAÇÃO DA ACIDIFICAÇÃO E PÓS-ACIDIFICAÇÃO DO IOGURTE DE LEITE DE BÚFALA INOCULADO POR CULTURA *STARTER* PROBIÓTICA

Silva, P.D.L. da¹, Bezerra, M.F.², Nascimento, J.W.², Magalhães, M. M.³ & Correia, R.T.P.^{4*}.

¹Doutoranda em Engenharia Química, PPGEQ – UFRN e bolsista CNPq

²Mestrandas em Engenharia Química, PPGEQ - UFRN e

³Professora Adjunta do Departamento de Engenharia Química, UFRN. Natal-RN.

⁴Professora Adjunta do Departamento de Agropecuária, UFRN. Natal-RN

Centro de Tecnologia, Campus Lagoa Nova. 59072-970. BRASIL.E-mail: diniz@eq.ufrn.br

Palavras-chave: leite de búfala, iogurte, acidificação, cultura *starter*.

RESUMO

O iogurte é considerado um importante derivado lácteo sendo produzido tradicionalmente a partir do leite bovino, mas outros tipos de leite podem ser utilizados, dentre eles o leite bubalino. Durante o processo de produção, acontece a fermentação láctica e conseqüente acidificação, fenômeno de fundamental importância para a qualidade final do produto. No presente estudo foram avaliadas a curva de acidificação e pós-acidificação de iogurte produzido a partir de leite de búfala, inoculado por cultura probiótica liofilizada composta por cepas dos microrganismos *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium*. Os valores de acidificação apontam para queda lenta e gradual do pH do leite, sobretudo após 90 minutos de incubação. Foi observado que o fenômeno de pós-acidificação acontece a partir dos quatro dias de armazenamento refrigerado a 7°C.

INTRODUÇÃO

O leite de búfala apresenta características próprias que permitem sua fácil identificação sob ponto de vista físico-químico e organoléptico. Seu sabor é peculiar, ligeiramente adocicado e é mais branco quando comparado ao leite bovino, devido aos baixos teores de caroteno em sua porção lipídica (NADER FILHO, 1984). Dados da FAO (2006) mostram que a produção de leite de búfala mundial apresentou aumento aproximado de 15% nos últimos cinco anos, passando de 67 milhões de toneladas em 2000 para um pouco mais de 77 milhões em 2005.

O leite bubalino possui maior teor de sólidos totais, já que possui teores de proteínas, gorduras e minerais que superam consideravelmente os do leite de vaca. Do ponto de vista tecnológico, devido a seu elevado rendimento industrial, pode ser aproveitado para a produção de diversos derivados tais como queijos, iogurte e doce de leite (NADER FILHO, 1984; SILVA *et al.*, 2003; CUNHA NETO, 2003; VERRUMA *et al.*, 2000). O iogurte é um produto lácteo fermentado derivado do leite, o qual se caracteriza por se mais digerível que o próprio leite. É um alimento completo e bem balanceado, restabelece a flora intestinal e pode ser consumido por indivíduos lactase-deficientes (TEIXEIRA *et al.*, 2005). Durante o processo de obtenção do iogurte, as bactérias lácticas metabolizam a lactose, desdobrando-a inicialmente a glicose e galactose e em seguida reduzindo a glicose a ácido láctico, no caso das culturas homofermentativas, ou ácido láctico e outros metabólitos, como etanol e CO₂, no caso das heterofermentativas (FERREIRA, 2005). Esta etapa é denominada acidificação e exerce importância primordial para a qualidade do produto final. Apesar desta etapa ser crucial para a produção de leites fermentados, dentre eles o iogurte, poucos trabalhos abordam o acompanhamento e entendimento do processo de acidificação, sendo em sua maioria, trabalhos tecnológicos em natureza, com ênfase na produção e caracterização química e sensorial do produto obtido.

O processo produtivo depende, dentre outros fatores, do tipo de leite usado, além do tipo de cultura láctea empregada. Durante a produção de iogurte a partir do leite de búfala, por exemplo, são

formados coágulos de texturas mais firmes e cremosas, sem a necessidade da utilização de espessantes como o leite em pó. Isso é explicado pelo seu teor de sólidos totais, além de gorduras, proteínas de elevada retenção de água (TEIXEIRA *et al.*, 2005).

Além de serem responsáveis pela produção de ácido láctico, as culturas *starter* também produzem compostos aromáticos. É possível que suas proteinases desempenhem papel importante na formação de gel nos leites fermentados, visto que este mecanismo de formação é mais complexo do que se espera pela simples queda de pH (ORDONEZ *et al.*, 2005). Desta forma a correta seleção de cepas é de fundamental importância para o processo de obtenção de iogurte.

As bactérias comumente utilizadas para o iogurte são cultivos lácticos de *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, mas a legislação brasileira permite a utilização de outras bactérias ácido-lácticas desde que, por sua atividade, contribuam para as características do produto final (BRASIL, 2000). Cepas consideradas probióticas têm sido empregadas para a fabricação dos mais diversos produtos lácteos, entre elas cepas de *Lactobacillus acidophilus*, além de várias espécies do gênero *Bifidobacterium*. Seu consumo pode ter efeitos profiláticos e/ou terapêuticos, além de produzir iogurte com características sensoriais peculiares (ORDONEZ *et al.*, 2005).

Um fenômeno passível de acontecer durante a estocagem do iogurte é a pós-acidificação. Caracteriza-se pela formação de ácido, mesmo após a conclusão do processo produtivo em si. As variações de acidez ocorridas neste período são influenciadas pelo tipo de cultura láctea utilizada na fabricação (SAMONA *et al.*, 1996). Os níveis de acidez do iogurte no período pós-fermentação podem influenciar a viabilidade de bactérias probióticas (DONKOR *et al.*, 2006).

Desta maneira, o presente trabalho objetivou avaliar a acidificação e pós-acidificação do leite de búfala, inoculado por cultura *starter* probiótica contendo cepas dos microrganismos *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium*. Para isso, foram acompanhadas as variações de pH e acidez durante o processo fermentativo e armazenamento refrigerado.

MATERIAL E MÉTODOS

O leite *in natura* utilizado no experimento foi fornecido pela Fazenda Tapuio, localizada no município estado do Rio Grande do Norte, Brasil, através de doação. O rebanho da fazenda é composto de búfalos da raça Murrah com aptidão leiteira. O leite foi acondicionado em embalagens plásticas de dois litros e mantido congelado até o momento da sua utilização.

Todos os utensílios utilizados no processo de fabricação dos iogurtes foram higienizados por imersão em água fervente durante cinco minutos, quando de vidro ou aço inoxidável. Material plástico e/ou sensível ao calor foi limpo em solução alcoólica.

Os iogurtes foram produzidos de acordo com o esquema experimental mostrado na Figura 1.

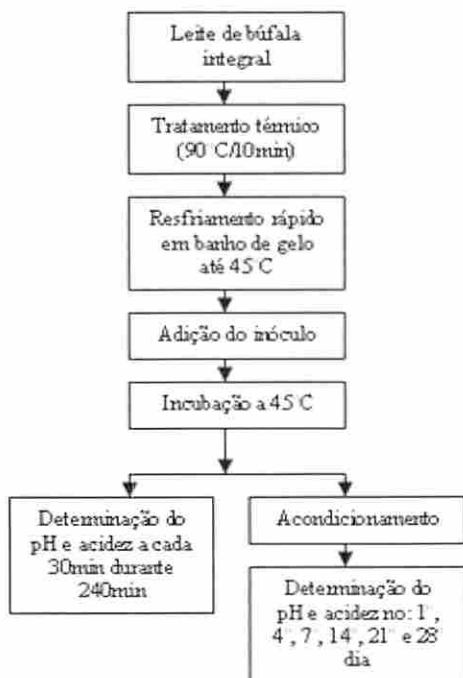


Figura 1. Fluxograma experimental.

O leite foi descongelado e vigorosamente homogeneizado antes de cada preparação. Feito isso, foi submetido a tratamento térmico a 90°C com duração de 10 minutos. Em seguida, o leite foi submetido a resfriamento rápido mediante imersão em banho de gelo (SILVIERI *et al.*, 2002), até atingir a temperatura desejada para inoculação (45°C).

Foi utilizado 1g de fermento liofilizado para cada litro de leite de búfala. Após vigorosa agitação, o leite inoculado foi acondicionado em recipientes de vidro e submetido à incubação. Para ambos os grupos, a incubação ocorreu a 45°C. Os experimentos foram realizados em triplicata.

As leituras de pH foram realizadas em potenciômetro digital, conforme Normas do Instituto Adolfo Lutz (1985). Aliquotas de 1mL de iogurte foram homogeneizadas com 10mL de água destilada previamente à análise.

A acidez foi determinada através de titulação por solução de N/9 de hidróxido de sódio (NaOH), utilizando-se como indicador solução alcoólica de fenolftaleína a 1%, conforme procedimento indicado nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985). A solução de hidróxido de sódio foi padronizada com solução padrão 0,1N de fitalato ácido de potássio. Para os cálculos da acidez cada 0,1ml de NaOH gastos com o propósito de atingir o ponto de viragem corresponde a 1°D. A curva de acidificação foi construída mediante a análise de pH e acidez total titulável expressa em graus Dornic (°D) das amostras tomadas a cada 30 minutos durante 240 minutos de incubação, constituindo os pontos experimentais: 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos.

Amostras do iogurte acondicionado em recipientes de vidro de 200 mL foram armazenadas à 7°C. Foram analisados quanto ao pH e acidez total titulável expressa em graus Dornic após 1, 4, 7, 14, 21 e 28 dias sob refrigeração.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise da curva de acidificação permite conhecer o comportamento fermentativo do sistema em questão, sobretudo, permite inferir sobre a velocidade e intensidade de acidificação. Dentre outros parâmetros, o tipo de leite e tipo e concentração de células da cultura *starter* utilizada influenciam sobremaneira o perfil de acidificação.

A Figura 2 mostra os valores de acidez e pH, respectivamente, durante a fermentação do leite de búfala. Observa-se uma curta fase *lag*, com sensível produção de acidez já após 60 minutos de incubação. Após este período, o incremento de acidificação é praticamente linear até o final

dos 240 minutos. Observa-se que após 90 minutos de incubação, já ocorre uma intensificação da produção de ácido, a qual também foi observada por Teixeira (2005).

O valor final de acidez obtido está dentro dos limites estabelecidos pela legislação vigente que equivale a 60 a 150 °Dornic (BRASIL, 2000). Estes valores também foram compatíveis com os encontrados por Leite (2006), onde foi utilizada a mesma cultura para a produção de iogurte bubalino e por Cunha Neto (2003) onde se utilizou leite bubalino integral.

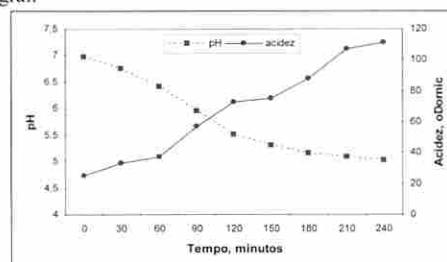


Figura 2. Valores de acidez e pH durante a fermentação do leite de búfala pela cultura *starter* probiótica a 45°C.

Como era de se esperar, a acidez teve um comportamento inversamente proporcional aos valores encontrados de pH. O acompanhamento do pH corrobora com as informações do perfil de acidez, tendo em vista o decréscimo rápido de pH apresentado, sobretudo entre 0 e 120 minutos. No presente experimento, após 240 minutos o pH ainda não havia alcançado o valor 4,6, necessitando provavelmente de um pouco mais de tempo de incubação para este valor ser atingido.

Ferreira (2005) afirma que para uma correta verificação da acidez efetiva, faz-se necessária também a determinação de pH. Isso se justifica pelo fato de diferentes amostras de leite ou seus derivados possuírem diferentes capacidades tamponantes, que dependem não só da concentração de ácidos, mas também da caseína, sais e outros componentes orgânicos. Sendo assim a determinação apenas da acidez da amostra pode não fornecer informação suficiente da real acidez da mesma.

A cultura probiótica utilizada neste estudo associa as bactérias *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* ao tradicionalmente presente em iogurte, *Streptococcus thermophilus*. Segundo Ordonez *et al.* (2005) esta combinação é justificada pelo fato deste último ser capaz de metabolizar a lactose e reduzir o pH mais rapidamente quando comparado às duas primeiras espécies e consequentemente é capaz de reduzir o tempo necessário para incubação. Além disso, o *Streptococcus* consome o oxigênio, facilitando o crescimento do *Bifidobacterium*.

Vale salientar que após 90 minutos de incubação, o sistema já começou a apresentar as primeiras características típicas de iogurte como *flavour* típico e modificações na textura.

O sistema apresentou o comportamento mostrado na Figura 3, durante o período de pós-acidificação.

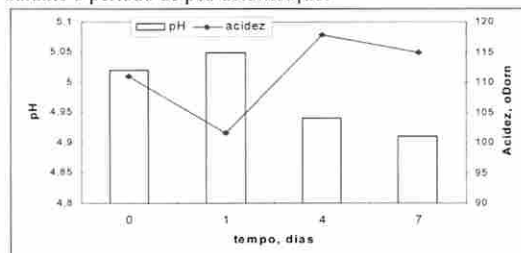


Figura 3. Valores de acidez e pH, após 1, 4, 7, 14, 21 e 28 dias do término da fermentação do leite de búfala pela cultura *starter* probiótica a 45°C.

Os dados mostram que após um dia sob armazenamento refrigerado, os níveis de pH e acidez dos iogurtes sofreram ligeira alteração, mantendo-se praticamente inalterados, já que o pH passou de 5,05 ao término da fermentação a 5,02 após 1 dia sob refrigeração, ao passo que a acidez variou de 108 °Dornic a aproximadamente 102°Dornic. Após 4 dias, pode-se observar tendência a acidificação, já que ocorre

um declínio de aproximadamente 0,08 unidades de pH quando comparado ao pH no início do armazenamento, enquanto a acidez teve uma variação em torno de 7^oDornic, no mesmo período. A partir de 7 até 28 dias é apresentado um progresso linear na acidez e um decréscimo adicional no pH, variando de 0,01 a 0,03 unidades. Donkor *et al.* (2006) analisando iogurte produzido com leite de vaca e culturas probióticas observaram decréscimos entre 0,057 e 0,077 unidades após 7 dias em armazenamento refrigerado.

CONCLUSÃO

Os dados apresentados permitem concluir que:

- Após 60 minutos de incubação observou-se uma sensível elevação da acidez, a qual foi intensificada após os 90 minutos;
- O valor de acidez final alcançado após o período de fermentação de 240 minutos encontra-se dentro dos limites estabelecidos pela legislação vigente que é 0,6 a 1,5 g de ácido láctico/100g;
- O fenômeno de pós-acidificação acontece, sobretudo após 4 dias de armazenamento refrigerado.

REFERÊNCIAS

- Brasil. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa n.37 de 31/10/2000. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite de Cabra. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 8 de novembro de 2000.
- Cunha Neto, O.C. Avaliação do iogurte natural produzido com leite de búfala contendo diferentes níveis de gordura. 2003. 71f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2003.
- Donkor, O.; Henriksson, A.; Vasiljevic, T.; Shah, N. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal*, v.16, p. 1181-1189, 2006.
- Faostat. FAO Statistical basis. Disponível em <faostat.org.br>. Acesso em 1 maio.2007.
- Ferreira, C.L. Produtos lácteos fermentados: aspectos bioquímicos e tecnológicos. Viçosa: UFV, 2005. 112p.
- Instituto Adolfo Lutz (1985). Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz, Campinas-SP.
- Leite, T. Caracterização química e curva de acidificação do leite bubalino. 2006. 24f. Monografia (Graduação em Zootecnia) – Departamento de Agropecuária, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal-RN, 2006.
- Nader Filho, A.; Schocken-Iturrino, R.P.; Rossi Junior, O.D.; Cavagliano, C.P.G. Estudo da variação do ponto crioscópico do leite de búfala. *Revista do Instituto Cândido Tostes*. v.39, n. 234, p.37-39, 1984.
- Ordóñez, J.A. Tecnología de Alimentos: alimentos de origem animal. v.2. Porto Alegre. Artmed, 2005.
- Samona, A.; Robinson, R.; Marakis, S. Acid production by bifidobacteria and yoghurt bacteria during fermentation and storage of milk. *Food Microbiology*, v. 13, p. 275-280, 1996.
- Silvieri, K.; Oliveira, M.N. Avaliação da vida-de-prateleira de bebidas lácteas preparadas com “fat replacers” (litesse e dairy-lo). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.22(1), p.24-31. 2002.
- Silva, M.S.T; Lourenço, JR J.B; Miranda H. A.; Erchesen, R; Fonseca, R.F.S.R; Melo, J.A.; Costa, J.M. Programa de incentivo a criação de búfalos por pequenos produtores – PRONAF. Belém, PA: CPATU, 2003. Disponível em www.cpatu.org.br/bufalo Acesso em 1 maio. 2007.
- Tamine, A; Robinson, R. YOGHURT, Science and Technology. Boca Raton: CRC Press. 2000.
- Teixeira, L. V.; Bastianetto, E.; Oliveira, D.A.A. Leite de búfala na indústria de produtos lácteos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v.29, n.2, p.96-100, abril/jun. 2005. Disponível em: www.cbpa.org.br. Acesso em: 15 de maio de 2007.
- Verruma, MR, Damasio MH, Valle JLE, Oliveira AJ. Elaboração do queijo mozzarella de leite de búfala pelos métodos tradicional e da acidificação direta. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.20, p.138-144. 2000.

EFFECTO DEL EDULCORANTE NATURAL ESTEVIÓSIDO EN LA ELABORACIÓN DE MERMELEDA DE GUAYABA DULCE

Simanca, Mónica María; Carmona, Angela María; Lombana, Gilma Patricia y De Paula, Claudia Denise.

UNIVERSIDAD DE CORDOBA
PROGRAMA DE INGENIERIA DE ALIMENTOS
FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS
Carrera 6ª # 76-103. E. mail. msimanca@sinu.unicordoba.edu.co
MONTERIA – COLOMBIA

Palabras clave: Procesos para diseño de alimentos, edulcorante, formulaciones, mermelada, sensorial.

RESUMEN

El propósito del trabajo fue evaluar el efecto de la adición del edulcorante natural esteviósido en la elaboración de tres formulaciones de mermelada, utilizando pulpa de guayaba dulce (*Psidium guajaba L.*) de la variedad extranjero en un estado de madurez comercial.

Preliminarmente se determinó el poder edulcorante de la estevia a través de análisis sensorial con 10 catadores semientrenados, a los que se les suministraron soluciones con diferentes concentraciones de sacarosa, con el fin de compararlas con una solución de estevia al 50%. Luego se definieron tres formulaciones de mermelada reemplazando parcialmente la sacarosa con diferentes concentraciones de estevia, se determinó la cantidad de ácido cítrico hasta llegar a un pH de 3 y la pectina de acuerdo a la cantidad de azúcar que es capaz de gelificar pectinas de 120^oSAG. Se seleccionó la mejor formulación con base en una prueba triangular con 10 catadores semientrenados, y al producto escogido se le realizó caracterización bromatológica, fisicoquímica y sensorial.

Se escogió la formulación con 0,14% de estevia como edulcorante, que presentó además alta humedad, baja proporción de carbohidratos, características microbiológicas y fisicoquímicas de acuerdo a la resolución 7992 de 1991 (Ministerio Salud-Colombia), y un 86,5% de aceptación en la prueba sensorial.

INTRODUCCION

En la actualidad hay un creciente interés por reemplazar los productos sintéticos que se emplean en las industrias relacionadas con la alimentación, por otros de origen natural. Los motivos que impulsan esta tendencia son numerosos y variados, e incluyen desde corrientes de pensamiento con gustos hacia lo natural, hasta el descubrimiento de efectos nocivos para la salud de ciertos compuestos sintéticos.

Las personas con problemas de diabetes, quienes presentan dificultades para el metabolismo de la glucosa, reemplazan el consumo del azúcar por edulcorantes sintéticos tales como la sacarina, el ciclamato, el aspartame o el acesulfame-K. Una alternativa al consumo de estos edulcorantes artificiales, es el reemplazo de los mismos por los de origen natural de bajo contenido calórico, como el proveniente de la *Stevia rebaudiana* Bertoni; planta herbácea perenne perteneciente a la familia de las asteráceas, que incluye además plantas tan reconocidas como el diente de león, girasol, achicoria y crisantemo (Jarma et al, 2005).

La *Stevia rebaudiana* Bertoni, es una especie nativa de la Zona Norte de la Región Oriental del Paraguay (Shock, 1982). Es sabido que, desde época inmemorial, las hojas de estevia se han venido utilizando como planta medicinal y edulcorante por los naturales del área citada. La tecnología relacionada con el cultivo de esta especie evolucionó considerablemente desde que el sabio Moisés S. Bertoni lo descubrió e identificó taxonómicamente, y luego que el Agrónomo Juan B. Aranda Jiménez y su esposa Vera Bertoni comenzaron a establecer los métodos de multiplicación y de producción que condujeron a su domesticación.

Se estima que hay más de 150 especies de *Stevia* que crecen en forma silvestre en el continente americano, siendo la *Stevia rebaudiana* Bertoni y otra especie ya extinta las que poseen la dulzura natural que las distingue. (Jarma et al, 2005). El edulcorante natural no calórico llamado esteviósido, cuyo poder es hasta 300 veces mayor que el de la sacarosa o azúcar de caña, es lo más parecido al azúcar entre todos los edulcorantes naturales, distinguiéndose de los artificiales por no tener sabor metálico y no ser cancerígeno. (Schwebel, 2005; Galván y Guzmán, 2003).

Las hojas de la estevia contienen una mezcla de ocho glicósidos diterpénicos (entre los que se encuentran principalmente el esteviósido y el rebaudiósido A), cada uno de los cuales posee una potencia edulcorante muy superior a la sacarosa. Los glicósidos son sustancias de origen vegetal, que se caracterizan, desde el punto de vista químico, por estar formadas por un azúcar unido por cierto enlace especial a una porción no azucarada de la molécula. (Jarma et al, 2005).

Con la difusión de la naturaleza y usos actuales y potenciales de los principios edulcorantes de esta planta, su cultivo comercial adquirió importancia y una alta demanda por parte de Japón, China, Corea, Taiwán, Israel, Paraguay, Uruguay y Brasil. (Alvarez, 2004); países en donde dio un fuerte impulso a la producción de esta especie vegetal mediante la extracción, destilación y cristalización de sus principales componentes químicos, que ya están siendo utilizadas en una amplia gama de productos destinados al consumo humano.

El químico Rebaudi en 1905, fue el primero en estudiar la sustancia edulcorante de la estevia, aunque erróneamente la clasificó como Glicirricina. En estudios complementarios, realizando pruebas sensoriales, se ha encontrado que el Rebaudioside A tiene el mejor sabor; y además, más cercano al azúcar. Los dulcósidos que existen en menor porcentajes presentan la particularidad de tener un ligero sabor amargo por contener su composición en Alfa-rhamosyl en lugar del Beta-glucosyl, y que se encuentra en el Steviósido y Rebaudioside A. Firmas comerciales de diversos países vienen estudiando cada uno de estos componentes, por medios físicos y químicos, con el fin de eliminar los dulcósidos con ligero sabor amargo; tales como la empresa Steviafarma S.A. de Maringa Brasil, que en 1999, luego de seis años de investigación logró eliminar a través de solventes químicos el sabor amargo, obteniendo 98% de pureza en Ssteviósido, Rebaudiósido A y otros rebaudiosidos. (Passicot (2002).

Rasenach en 1908 y Dietrich 1909, demostraron que el principio edulcorante de la estevia es totalmente diferente al de la Glicirricina; mediante el uso de alcohol lograron sustraer la sustancia gustativa dulce de las hojas, purificarla y luego posteriormente obtenerla en forma de cristales blancos inodoros que se fundían a 238° C. En 1921 el principio activo fue denominado como esteviósido por la Unión Internacional de Química (Unión Internationale de Chimie).

Bridel y Lavielli en 1931 afirmaron que la sustancia de la estevia poseía poder higroscópico que era aproximadamente 300 veces mas dulce que la Sacarosa o azúcar de caña. En 1966 el Profesor Ovidio Miguel de la facultad de Medicina de la U.N.A comunica que puede utilizarse como anti diabético, y en el 209 Congreso de Diabetes realizado en Buenos Aires expone sobre sus efectos sobre la glucemia.

La especialista en Endocrinología, Nutrición y Diabetes, Nilsa Noemi Ibarrola Arce explica que a diferencia de los hipoglicemiantes convencionales, la estevia mejora la circulación pancreática, en especial la de los islotes y como consecuencia hay secreción de insulina. El uso continuado de la estevia en infusiones, es decir consumo regular, disminuye la absorción de hidratos de carbono a nivel intestinal, actuando de este modo como adelgazante, alivia también los dolores reumáticos. Explica además de las bondades de la planta como cardiotónico, antidepressivo, diurético, digestivo y antiácido. (Vélez, 2007).

El esteviosido según sus propiedades, tiene múltiples aplicaciones, entre las cuales pueden ser citadas las siguientes:

1. Anticaries: no siendo fermentativo, se lo utiliza actualmente en pastas dentales y gomas de mascar con ese fin.
2. Edulcorante: el producto puede ser usado en ciertas industrias.
3. Productos alimenticios: Posee una amplia gama de aplicación en los productos alimenticios, entre los que cabe mencionar: conservas de frutas y hortalizas, embutidos, salsas, bebidas, lactes, repostería y confitería entre otros.
4. Farmacéuticos: es utilizado en ciertas formulaciones farmacéuticas debido a que no es fermentación, no sufre alteraciones en medios ácidos, hidrolizándose solamente en medios muy alcalinos (pH=9) térmicamente es muy estable.

El uso del esteviosido como aditivo se encuentra contemplado en el Código Alimentario Argentino (CAA) bajo el Art.1398.64.3. Allí se define al esteviosido como un "polvo blanco cristalino, inodoro, no higroscópico, no fermentescible, de sabor dulce aún en soluciones muy diluidas, muy soluble en agua" (Mazzeo, 2003).

El INVIMA (Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos-Colombia) a través de La SEABA (sala Especializada de Alimentos y Bebidas Alcohólicas emite que la planta *Stevia rebaudiana*, puede recomendarse como edulcorante de origen natural (Carmona y Lombana, 2003).

El presente trabajo se realizó con el objetivo de evaluar el efecto de la adición del edulcorante natural esteviosido en la elaboración de tres formulaciones de mermelada de guayaba dulce (*Psidium guajaba L.*), con el fin de ofrecer una alternativa para la población con gustos y necesidades hacia edulcorantes naturales no calóricos y un aprovechamiento del cultivo de la guayaba de la región cordobesa colombiana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales.

La población objeto de estudio estuvo constituida por cultivos de guayaba dulce de Cereté-Córdoba (Colombia) y la estevia del cultivo de investigación del Departamento de Agronomía de la Universidad de Córdoba (Colombia).

Métodos.

Determinación del poder edulcorante de la estevia.

Se realizó un análisis sensorial con 10 catadores semientrenados, a quienes se les proporcionaron 7 soluciones de sacarosa (0%, 100%, 150%, 200%, 250% y 300%) con el fin de hacer entrenamiento; posteriormente se les suministró una solución de estevia al 50% con el fin de compararla con las soluciones de sacarosa e identificar la concentración con la cual se asemejaba.

Elaboración de mermelada.

Para definir las formulaciones de la mermelada se determinó un aporte de 50% en pulpa de guayaba dulce con 9 °Brix, pH de 4,1 y acidez de 0,9% de ácido cítrico.

Se reemplazó parcialmente la sacarosa en las tres formulaciones de la siguiente manera: 0,28% de estevia como edulcorante y 0,72% de pectina para la formulación uno, 0,21% de estevia, 21,6% de sacarosa y 0,36% de pectina para la formulación dos y 0,14% de estevia, 43,25% de sacarosa y 0,18% de pectina para la formulación tres; la variación en la cantidad de pectina adicionada a las tres formulaciones se debió a la necesidad de fortalecer la formación del gel con ayuda de este agente gelificante, puesto que a sabiendas de que

la estevia no aporta sólidos solubles en ensayos preliminares se observó una deficiente textura de la mermelada.

Se empleó ácido cítrico como acidulante en una concentración 1,06% en todas las formulaciones y benzoato de sodio como conservante en proporción de 0,1%, 0,07% y 0,05% en las formulaciones uno, dos y tres respectivamente, para contrarrestar la ausencia de sólidos solubles de la estevia, los cuales ejercen una presión osmótica que ayuda a la conservación del producto.

La guayaba dulce se seleccionó y clasificó con el fin de eliminar los frutos con golpes, magulladuras o indicios de contaminación; posteriormente se sometió a limpieza y desinfección con una solución de cloro a 25 ppm. Luego se despulpó, refinó y se realizó el pesaje de la materia prima.

La concentración de la mermelada se llevó a cabo en una marmita con agitación, sometiendo a calentamiento inicial la pulpa y la estevia, posteriormente se adicionó la pectina, el conservante y al final de la concentración se adicionó el ácido cítrico.

El producto se envasó en caliente en frascos de vidrio con capacidad de 100g, se pasó por un túnel de exhausting y se almacenó en un lugar fresco y libre de contaminación.

Se seleccionó la mejor formulación de mermelada con base en los resultados de la pruebas discriminativa triangular utilizando diez catadores semientrenados.

Caracterización de mermelada seleccionada.

A la formulación elegida a través la prueba discriminativa triangular, se le realizó análisis bromatológico (humedad, carbohidratos, proteína, grasa, fibra y cenizas) y fisicoquímico (°Brix, acidez, pH, pectina) mediante las técnicas de la A. O. A. C. (1990), A. O. A. C. (1990); análisis microbiológico (mesófilos aerobios, hongos, esporas de *Clostridium* sulfito reductor, coliformes totales y fecales) con base en los recomendaciones del Invima, (1998) y análisis sensorial de aceptación mediante una escala hedónica de 9 nueve puntos con 200 catadores consumidores.

El tipo de investigación fue experimental utilizando un diseño completamente al azar con tres repeticiones, y los resultados se les aplicaron análisis de varianza por medio del paquete estadístico SAS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la determinación del poder edulcorante de la estevia se muestran en la Figura 1, en donde se puede deducir que el 20% de los catadores semientrenados compararon la solución de estevia al 50% con una de sacarosa al 250% y el 80% de estos lo comparó con una de 300%, lo cual concuerda con los reportes de Schwebel (2005) y los Galván y Guzmán (2003).

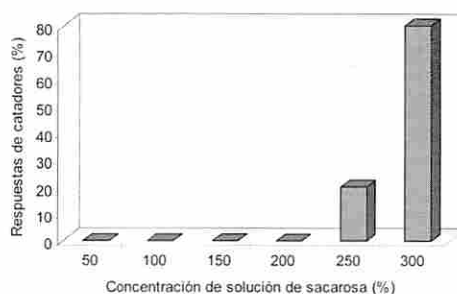


Figura 1. Poder edulcorante de la estevia comparado con soluciones de sacarosa

En la tabla 1 se muestran los resultados de la prueba discriminativa triangular para seleccionar la mejor formulación, en donde se observa que la formulación 3 con 0,14% de estevia fue la que menos diferencia arrojó, por lo tanto se escoge como la más similar al producto de comparación.

Tabla 1. Resultados Prueba sensorial discriminativa

Formulación néctar	Porcentaje catadores que estableció diferencia
1 (0,28% estevia)	90
2 (0,21% estevia)	80
3 (0,14% estevia)	50

Las características bromatológicas de la mermelada mostradas en la tabla 2 revelan un alto contenido de humedad y bajo de carbohidratos, puesto que la estevia no aporta sólidos solubles; este aspecto puede considerarse una desventaja desde el punto de vista de la conservación, requiriéndose conservantes para prolongar la vida útil del producto.

Tabla 2. Características bromatológicas y fisicoquímicas de mermelada de guayaba dulce con 0,14% de estevia

Componente	Porcentaje
Humedad*	62,7
Proteína bruta*	2,6
Extracto etéreo*	0,3
Fibra*	2,4
Cenizas*	0,8
Carbohidratos*	31,3
pH	3
Acidez (ácido cítrico)	1,4
°Brix (sólidos solubles)	45
Pectina	1,7

*Base seca

Los resultados de los análisis fisicoquímicos permiten establecer que se cumplió con la resolución 7992 de 1991 que establece que las mermeladas de frutas deben poseer un pH máximo de 3,4 y una acidez mínimo del 0,5%. Pero para el caso de los °Brix se observa diferencia, puesto que la resolución establece mínimo 60% y el que presentó la mermelada fue de 45° Brix, ya que la estevia no aporta sólidos a pesar de proporcionar el mismo efecto edulcorante con la proporciones utilizados; se considera esto una ventaja ya que hay menos aporte de calorías. El análisis microbiológico de la mermelada de guayaba dulce mostrado en la tabla 3, permite catalogarla como de buena calidad y apta para el consumo humano de acuerdo a la resolución 7992 de 1991 del Ministerio de Salud de Colombia.

Tabla 3. Características microbiológicas de la mermelada de guayaba dulce con 0,14% de estevia.

INDICADOR	n	RESULTADO
Recuento de mesófilos aerobios y facultativos viables (UFC/mL)	3	<10
NMP Coliformes totales (Bate./mL)	3	<3
NMP Coliformes fecales (Bate./mL)	3	<3
Recuento de esporas <i>Clostridium</i> sulfito reductor (UFC/mL)	3	<10
Recuento mohos y levaduras(UFC/mL)	3	<10

n: número de muestras

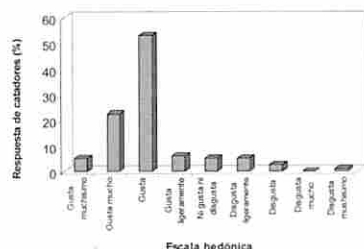


Figura 2. Prueba de aceptación de mermelada de guayaba dulce con 0,14% de estevia.

Los resultados de la prueba hedónica con 200 catadores consumidores se presentan en la Figura 2, en donde se concluye que el 86,5% de los catadores calificó

favorablemente la néctar de guayaba dulce con 0,14% de estevia, con apreciaciones desde me gusta ligeramente hasta me gusta muchísimo; al 5% le fue indiferente, mientras que el 8,5% calificó desfavorablemente al néctar.

CONCLUSIONES

Los catadores semientrados compararon la solución de estevia al 50% con una solución de sacarosa al 300%.

La formulación de mermelada escogida fue la que contenía 0,14% de estevia como edulcorante, presentando alta humedad y baja proporción de carbohidratos, ya que no aporta sólidos solubles.

Las características fisicoquímicas de la mermelada de guayaba corresponden con lo dispuesto en la resolución 7992 de 1991, excepto en los °Brix, puesto que la estevia no aporta sólidos solubles; considerándose también una ventaja ya que no aporta calorías.

Las características microbiológicas permiten calificarlo como de buena calidad y apta para el consumo humano de acuerdo a la resolución 7992 de 1991.

En la prueba sensorial de aceptación se calificó en un 86,5% favorablemente la mermelada de guayaba dulce con 0,14% de estevia, indiferentemente con un 5% y desfavorablemente con un 8,5%.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Córdoba, a la Facultad de Ciencias Agrícolas y al Programa de Ingeniería de Alimentos por su colaboración en el desarrollo del proyecto.

BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS

-Alvarez, J.E. 2004. *Stevia rebaudiana* Bertoni. Universidad EAFIT. Departamento de Negocios Internacionales. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural de Antioquia., Medellín, p71.

-Anzaldúa, A. 1994. La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. Editorial Acirbia S.A. Zaragoza- España. p 198.

-A.O.A.C. (Association of official analytical chemists). 1990. Oficial methods of analysis. Volume 2. Arlington-U.S.A. p 914 - 918.

-Bernal, I.R. 1993. Análisis de Alimentos. Editorial Guadalupe Ltda. Santa fe de Bogotá. p 47-53, 104, 107.

-Bertoni, M. S. 1905. Anales Científicos Paraguayos, Serie N° 5, Asunción.

-Bridel, M. y Lavielli, R. 1931. El principio dulce de las hojas de la *Stevia rebaudiana* Bertoni. Pharm Chin, 14 (3): 99-113.

-Camacho, G. 1997. Taller de conservación de frutas y hortalizas. ICTA. Santa fe de Bogotá. p 4, 10-18.

-Carmona, A. y Lombana, G. Determinación de las condiciones de utilización del edulcorante natural esteviosido obtenido a partir de la *Stevia rebaudiana* Bertoni en el proceso de elaboración de derivados vegetales(mermelada y néctar de guayaba dulce). Tesis de grado. Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Córdoba, Montería (Colombia). p33.

-Galván, L. y Guzmán, J. 2003. Determinación de los requerimientos nutricionales de *Stevia rebaudiana* Bert en el Sinú Medio. Tesis de grado. Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Córdoba, Montería (Colombia). p106.

-Inima. 1998. Manual de técnicas de análisis para control de calidad microbiológico de alimentos para consumo humano. Santa fe Bogotá. P 17-20, 25, 26, 31, 32, 36-38.

-Jarma, A.; Rengifo, T. y Araméndiz, H. 2005. Aspectos fisiológicos de estevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) en el caribe colombiano: I. Efecto de la radiación incidente sobre el área foliar y la distribución de masa. Agronomía Colombiana. 23(2): 207-216.

-Mazzeo, C. 2003. Saber Como. Instituto Nacional de Tecnología Industrial INTI. En: <http://www.inti.gov.ar/sabercomo/sc33/inti5.php>. consulta julio 2007.

-Ministerio de Salud. 1991. Resolución 7992. República de Colombia.

-Passicot, C. 2002. Guía de consulta de plantas vasculares: Asteriade. Facultad de ciencias exactas y naturales y agrimensura (UNNE). En: <http://fai.unne.edu.ar/biologia/diversidadv/index.htm>; consulta julio 2007.

-Schmelting, A. 1967. Edulcorante natural no calórico, Centro de investigación de la Stevia. 29(5). San Paulo.

-Shock, C. 1982. Rebaudi's Stevia: Natural non Caloric Sweeteners California Agricultural, California, U.S.A.

-Schwebel, R. 2005. Stevia, el edulcorante natural sudamericano con cero calorías. En: http://www.fm.unt.edu.ar/ftp/Health_I_G_News/Dic1998.doc; consulta: junio 2005.

-Sumida, T.1975. Estudios sobre Stevia Rebaudiana como edulcorante. Japón Journal Crops Science. Tokio, Japón.

-Vélez, Y. M., 2007. Diabetes y Stevia. En: <http://www.mellitusmagazines.blogspot.com/2007/07/diabetes-y-stevia.html>; consulta: julio 2007.

EFFECTO ANTIOXIDANTE DE DIFERENTES FRACCIONES DE LECITINA DE GIRASOL ENRIQUECIDAS EN FOSFATIDILCOLINA

Cabezas, Dario Marcelino; Tomás, Mabel Cristina *

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN CRIOTECNOLOGÍA DE ALIMENTOS
(CIDCA) FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS (UNLP-CONICET), 47 y 116, (1900)
LA PLATA, PROVINCIA DE BUENOS AIRES, ARGENTINA

* E-mail: mabtom@hotmail.com

Palabras Claves: Procesamiento de Subproductos, Lecitinas de Girasol Modificadas, Antioxidantes Naturales

RESUMEN

Las lecitinas son una mezcla compleja de fosfolípidos, principalmente fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE) y fosfatidilinositol (PI). Los procesos de modificación, tales como el fraccionamiento con etanol, permiten generar lecitinas con cambios en la concentración relativa de estos componentes y por ende, en diversas propiedades funcionales de potencial uso a nivel industrial. El objetivo de este trabajo fue investigar las propiedades antioxidantes de lecitinas modificadas de girasol enriquecidas en fosfatidilcolina. A tal efecto, se analizaron tres fracciones: un extracto etanólico obtenido por fraccionamiento con alcohol absoluto (EE) y las fracciones PC I y PC II obtenidas a partir de extractos etanólicos extraídos con alcohol absoluto y 90°, respectivamente, con posterior eliminación del aceite residual. La actividad antioxidante se evaluó a partir de los tiempos de inducción (t_i) registrados mediante un ensayo de oxidación acelerada (Rancimat) sobre aceite refinado de girasol adicionado con las diferentes fracciones (2000 ppm). Además, se estudió el efecto de tratamientos térmicos previos (120° o 160°C, 1h) sobre las propiedades antioxidantes de las respectivas fracciones. Los resultados obtenidos mostraron un efecto antioxidante significativo de las tres fracciones citadas en las condiciones de estudio. La fracción PC II demostró tener las mejores cualidades como agente antioxidante en comparación con las otras lecitinas modificadas utilizadas. La misma registró un aumento entre 115-205% en los t_i , con respecto al correspondiente sistema control en las diferentes condiciones estudiadas. La fracción PC I registró t_i considerablemente mayores en relación a las muestras adicionadas con la fracción EE. La diferencia de actividad antioxidante entre las fracciones analizadas estaría ligada a las distintas concentraciones relativas de los fosfolípidos mayoritarios, los cuales pueden actuar en forma sinérgica con los tocoferoles presentes en el aceite o bien como quelantes de metales. La presencia de estos agentes antioxidantes permitió revertir el efecto de los tratamientos térmicos aplicados sobre la estabilidad oxidativa de aceite de girasol.

INTRODUCCION

Los alimentos contienen diferentes componentes susceptibles de sufrir procesos oxidativos. El desarrollo de un proceso de deterioro por oxidación lipídica es una de las principales causas de falta de aceptación de los alimentos por parte del consumidor. La peroxidación lipídica y el desarrollo de rancidez se producen a partir de un mecanismo de reacción en cadena generado por radicales libres (Cuppet, S. y col., 1997). Un exceso de radicales libres o de productos de oxidación pueden no sólo afectar la calidad organoléptica del alimento sino además el metabolismo humano. Estos productos entre los que se destacan los peróxidos y las sustancias reactivas al oxígeno (ROS) se encuentran asociados a una amplia variedad de enfermedades (cáncer, diabetes, artritis, Parkinson, enfermedades cardiovasculares y cerebrales) y al envejecimiento prematuro de los tejidos (Benzie, 1996). La utilización de antioxidantes es considerada como una de las técnicas más apropiadas para reducir la oxidación lipídica (Frankel, 2005). Los antioxidantes sintéticos como el BHT y el BHA son ampliamente utilizados a nivel industrial por su alta eficiencia, bajo costo y alta estabilidad. No obstante, su aplicación en alimentos está sujeta a estrictas regulaciones y/o prohibiciones, en algunos países, por su falta de inocuidad a nivel toxicológico (Attman, 1986; Powell, 1986). Estas

restricciones sumadas a la preferencia de los consumidores hacia productos de origen "natural" llevó en los últimos años a la industria de los aceites y las grasas a contemplar el empleo de antioxidantes naturales (Shahidi, 1997). Las lecitinas son obtenidas como subproducto del proceso de refinación de aceites vegetales. Los fosfolípidos pueden contribuir a una mejora de la estabilidad oxidativa de productos de origen lipídico (Judde y col., 2003). No obstante, es escasa la información existente acerca de la posible actividad antioxidante asociada a lecitinas de girasol sometidas a procesos de modificación. El objetivo de este trabajo fue investigar la eficiencia de lecitinas modificadas de girasol como agentes antioxidantes. A tal efecto, se estudió la actividad antioxidante de tres fracciones enriquecidas en PC sobre aceite refinado de girasol mediante la determinación de los tiempos de inducción (t_i) registrados en un ensayo acelerado de oxidación (Rancimat). Por otra parte, se estudió la incidencia de distintos tratamientos térmicos previos (120°C o 160°, 1 hora) sobre las muestras previamente citadas.

MATERIALES Y METODOS

Materiales

Se utilizó lecitina de girasol, provista por la industria aceitera local, para obtener diferentes fracciones enriquecidas en fosfatidilcolina y aceite refinado de girasol como sistema control.

Fraccionamiento

La lecitina de girasol fue sometida a un proceso de fraccionamiento con etanol (65°, 60 min, etanol/lecitina 3/1 v/p, agitación moderada) a partir del cual se obtuvo un extracto etanólico y un residuo. Luego de eliminar el aceite residual de estas fracciones mediante la utilización de acetona se obtuvieron fracciones enriquecidas en PC (Cabezas y col., 2007). La eliminación de aceite se realizó de acuerdo al procedimiento detallado en AOCs Oficial Method Ja 4-46, procedimientos 1-5 (AOCs, 1994).

Fracciones enriquecidas en PC

El análisis de actividad antioxidante se realizó sobre tres lecitinas modificadas de girasol enriquecidas en PC. Las fracciones PC empleadas se obtuvieron mediante extracción con alcohol absoluto (PC I) y alcohol 90° (PC II). Además se investigó la actividad antioxidante de un extracto etanólico (EE) (Figura 1).

Análisis Composicional

El contenido de fosfolípidos (%PC, %PI y %PE) de las distintas fracciones se determinó mediante su análisis cuantitativo a través de ³¹P-NMR (Bruker Avance 300 MHz) usando trifenílfosfato como estándar interno (Spectral Service GmbH, Köln, Germany) (Diehl, 1997).

El contenido de tocoferoles presentes en el aceite de girasol fue determinado mediante HPLC-fluorescencia (TECSE – Facultad de Ingeniería UNCPBA).

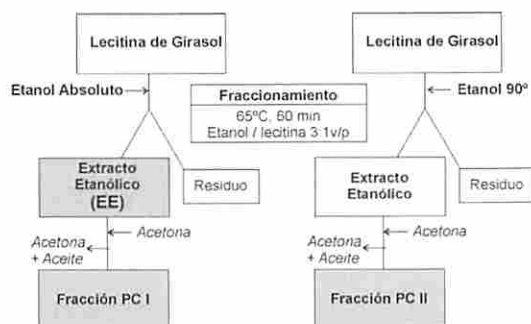


Figura 1. Proceso de fraccionamiento para la obtención de fracciones enriquecidas en fosfatidilcolina

Ensayo de Oxidación acelerada

Se utilizó un equipo Rancimat (Rancimat 679, Metrohm) para determinar los tiempos de inducción (t_i) del aceite con adición de 2000 ppm de las diferentes fracciones de lecitinas de girasol enriquecidas en fosfatidilcolina. El extracto etanólico (EE) fue adicionado considerando las 2000 ppm sobre la fracción acetona insoluble (39 %). Las condiciones operativas fueron: 98°C, 20 L/h de aire y 5 g de muestra, habiéndose realizado las determinaciones por duplicado. Este procedimiento se realizó también con la aplicación de un tratamiento térmico previo a 120° o 160°, durante una hora, a fin de evaluar la incidencia del mismo sobre la capacidad antioxidante de las fracciones utilizadas. En las muestras sometidas a procesos térmicos previos, la adición de las diferentes fracciones se realizó en una etapa previa al mismo. Se utilizó como sistema control aceite refinado de girasol con o sin tratamiento térmico previo, respectivamente.

Análisis Estadístico

El análisis estadístico se realizó mediante un análisis de varianza (ANOVA). Se consideraron diferencias significativas a $p < 0.05$, utilizándose para tal fin, el software SYSTAT® 5.02.

RESULTADOS

Análisis Composicional

Los resultados obtenidos mediante ³¹P NMR exhibieron un importante enriquecimiento en fosfatidilcolina y un menor contenido de fosfatidilinositol en las fracciones estudiadas (PC I y PC II) en comparación con la lecitina de girasol nativa (Tabla 1). La relación porcentual entre los fosfolípidos mayoritarios del EE fue similar a la observada para la Fracción I (datos no mostrados).

Tabla 1. Composición de fosfolípidos mayoritarios (PC, PE, PI) correspondientes a las fracciones enriquecidas en fosfatidilcolina y la lecitina nativa de girasol.

FL/FL totales (%)	Fracción PC I	Fracción PC II	Lecitina de Girasol
PC	76.7	71.1	36.7
PI	2.8	7.4	35.3
PE	10.7	12.2	15.0
Otros FL	9.8	9.7	13.0

FL/FL totales (%) = Porcentaje de fosfolípidos/ fosfolípidos totales

Los tocoferoles presentes en los aceites vegetales poseen también un efecto antioxidante. En este caso, el aceite de girasol empleado como sistema modelo presentó un contenido de α -tocoferol de 1.29 mg/g de aceite.

Actividad Antioxidante de las Fracciones

La actividad antioxidante de las distintas fracciones obtenidas fue evaluada mediante el análisis de los tiempos de inducción (t_i)

registrados en un equipo Rancimat. Esta metodología es utilizada para evaluar la eficiencia de antioxidantes sintéticos o naturales en la estabilización de aceites y grasas frente a un ensayo acelerado de oxidación (Verleyen y col., 2005).

El estudio de los t_i obtenidos permitió evidenciar un efecto antioxidante significativo asociado a todas las fracciones enriquecidas en fosfatidilcolina analizadas (EE, PC I, PC II). Esta observación se basa en los mayores t_i obtenidos para aceites adicionados con las fracciones de lecitina frente al respectivo aceite control (con o sin tratamiento térmico) (Figura 2).

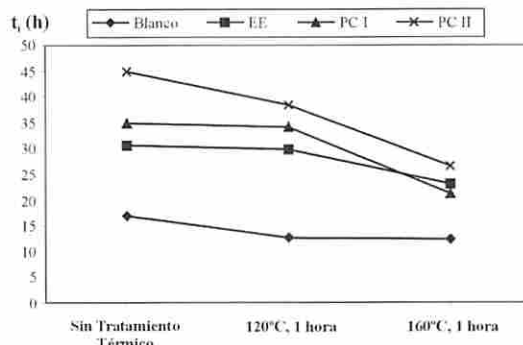


Figura 2. Tiempos de inducción (t_i) obtenidos en aceites adicionados con fracciones de lecitina de girasol enriquecidas en fosfatidilcolina mediante un equipo Rancimat.

La Fracción PC II demostró tener las mejores cualidades como agente antioxidante en comparación con las otras lecitinas modificadas ensayadas. La misma registró un aumento en los t_i entre un 115.4% (sin tratamiento térmico) y un 204.4% (120°C, 1h) con respecto al control sometido a las mismas condiciones operativas (Tabla 2). Esta diferente actividad antioxidante registrada frente a las otras fracciones se evidenció en mayor medida en las muestras que no fueron sometidas a un tratamiento térmico previo, reduciéndose considerablemente con la intensidad del proceso térmico al aumentar los niveles de temperatura.

Tabla 2. Evolución del t_i de aceites de girasol adicionados con fracciones enriquecidas en PC sometidas a diferentes tratamientos térmicos previos.

	$\Delta t_{iST}/t_{i\text{control ST}}$ (%)	$\Delta t_{i120}/t_{i\text{control 120}}$ (%)	$\Delta t_{i160}/t_{i\text{control 160}}$ (%)
EE	81.7	137.3	88.3
PC I	106.5	171.4	72.5
PC II	166.3	204.4	115.4

t_{iST} : t_i correspondiente a muestras sin tratamiento previo
 $t_{i\text{control ST}}$: t_i correspondiente al sistema control sin tratamiento previo

t_{i120} : t_i correspondiente a muestras con tratamiento 120°C, 1h
 $t_{i\text{control 120}}$: t_i correspondiente al sistema control con tratamiento 120°C, 1h

t_{i160} : t_i correspondiente a muestras con tratamiento 160°C, 1h
 $t_{i\text{control 160}}$: t_i correspondiente al sistema control con tratamiento 160°C, 1h

La fracción PC I registró t_i considerablemente mayores en las muestras sin tratamiento térmico previo y con tratamiento a 120°C en comparación con la fracción EE. Este hecho denota que el proceso térmico al cual se sometió al extracto etanólico, durante la extracción del aceite residual con acetona, no afectó la actividad funcional de los fosfolípidos.

En la Tabla 3 se observa el aumento porcentual de los t_i con respecto al sistema control sin tratamiento térmico. En todos los casos puede observarse que el agregado de las fracciones enriquecidas en fosfatidilcolina permite revertir el efecto de los tratamientos térmicos sobre la estabilidad oxidativa del aceite refinado de girasol. Pueden observarse aumentos del 102 al 127% con adición de las fracciones PC I y PCII, respectivamente, para muestras tratadas a 120°C. Las muestras

sometidas a 160°C tuvieron un aumento significativo aunque menor para las tres fracciones. En este caso, el mismo registró valores que oscilaron entre 26 y 57.4%.

Tabla 3. Efecto del tratamiento térmico en el ti de aceites de girasol adicionados con fracciones de lecitinas de girasol enriquecidas en PC sometidas a diferentes tratamiento, relativos al ti del sistema control sin tratamiento térmico previo

	$\Delta \text{ti}_{\text{ST}}/\text{ti}_{\text{control ST}}$ (%)	$\Delta \text{ti}_{120}/\text{ti}_{\text{control ST}}$ (%)	$\Delta \text{ti}_{160}/\text{ti}_{\text{control ST}}$ (%)
Control	0,0 ^b	-25,4 ^a	-26,9 ^a
EE	81,7 ^e	76,9 ^e	37,6 ^e
PC I	106,5 ^f	102,4 ^f	26,0 ^e
PC II	166,3 ^h	126,9 ^g	57,4 ^d

ti_{ST}: ti correspondiente a muestras sin tratamiento previo
 ti_{control ST}: ti correspondiente al sistema control sin tratamiento previo
 ti₁₂₀: ti correspondiente a muestras con tratamiento 120°, 1h
 ti₁₆₀: ti correspondiente a muestras con tratamiento 160°, 1h

La actividad antioxidante exhibida por parte de las fracciones estudiadas podría correlacionarse con el efecto sinérgico entre los fosfolípidos y los tocoferoles presentes en el aceite de girasol (α-tocopherol 618.4 ppm). Los grupos amino de la PC y de la PE y el azúcar reducido del PI cumplirían un papel relevante en dicho efecto donando un hidrógeno para regenerar la estructura química activa de los tocoferoles, es decir, podrían retardar su oxidación irreversible a tocoferil quinona. El efecto antioxidante también podría estar favorecido por la capacidad de los fosfolípidos de actuar como agentes quelantes de metales.

CONCLUSIONES

Las fracciones de lecitinas de girasol enriquecidas en PC a partir de un proceso de fraccionamiento con etanol presentan una interesante actividad antioxidante para aceite de girasol con o sin tratamiento térmico en las condiciones estudiadas. La diferencia de actividad antioxidante entre las fracciones analizadas estaría ligada a las distintas concentraciones relativas de los fosfolípidos mayoritarios, los cuales varían en su capacidad de actuar en forma sinérgica con los tocoferoles presentes en el aceite o como quelantes de metales. La adición de lecitinas enriquecidas en PC permitiría extender considerablemente la estabilidad oxidativa, y por lo tanto la vida útil del aceite refinado de girasol, aún luego de ser sometido a un tratamiento térmico. Esta propiedad hace factible su aplicación como aditivo en la industria alimentaria.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT), Argentina. PICT 2002-0910768 (ANPCyT) y PICTO 09-13156 (ANPCyT-ASAGIR). Dres. W. van Nieuwenhuyzen (ILPS) y B. Diehl (Spectral Service), Ing. C. Mateo (TECSE) y Sr. N. Buseghin (Vicentin S.A.I.C.).

BIBLIOGRAFIA Y REFERENCIAS

- AOCs 1994. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society, 4th Ed., Champaign, USA. AOCs Press
- Attmann, H. J., Grunov, W., Mohr, U., Richterreichhelm, M. B., and Wester, P. W. 1986. Effects of BHA and related phenols on the forestomach of rats. *Food and Chemical Toxicology*, 24:1183-1188
- Benzie, I. F. F. 1996. Lipid peroxidation: A review of causes, consequences, measurement and dietary influences. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 47, 233-261.
- Cabezas, D.M., Torres, N., Diehl, B. and Tomás, M. C.. Effect of ethanol- water mixtures on PC-enriched fractions obtained from sunflower lecithin. *European Journal of Lipid Science and Technology*, manuscript ID: EJLT-2007-0133 (2007)
- Cuppett, S., Schepf, M. and Hall III, C. 1997. Natural Antioxidants- Are they a reality?. Chapter 2, in *Natural Antioxidant: chemistry, health effect and applications*. Editor F. Shahidi. Champaign, USA. AOCs Press. p:12-24
- Diehl, B.W.K. 1997. Multinuclear high-resolution magnetic resonance spectroscopy, in *Lipid Analysis in Oils and Fats*. Edits. R.J. Hamilton, Blackie Academic & Professional, 87-135.
- Frankel, E. N. 2005. Antioxidant. Chapter 9, in *Lipid Oxidation (2nd ed.)*. Bridgewater, England. The Oily Press. p:209-253
- Judde, A., P. Villeneuve, A. Rossignol-Castera and A. Le Guillou 2003. Antioxidant Effect of Soy Lecithins on Vegetable Oil Stability and Their Synergism with Tocopherols. *JAOCS*, 80:1209-1215
- Powell, C. J., Connelly, J. C., Jones, S. M., Grasso, P., & Bridges, J.W. 1986. Epatic responses to the administration of high doses of BHT to the rat: Their relevance to epatocarcinogenicity. *Food and Chemical Toxicology*, 24:1131-1143.
- Shahidi, F. 1997. Natural Antioxidants- Are they a reality?. Chapter 2, in *Natural Antioxidant: chemistry, health effect and applications*. Editor F. Shahidi. AOCs Press. p:1-9
- Verleyen T., S. Van Dick y C. A. Adams 2005. Accelerated Stability Test, Chapter 9, in *Analysis of Lipids Oxidation*. Edits. Kamal-Eldin and Pokorny. Champaign, USA. AOCs Press. p:221-228

COMPARATIVE STUDY OF PHYSICAL AND SENSORY PROPERTIES OF POTATO SLICES DURING ATMOSPHERIC AND VACUUM DEEP-FAT FRYING

Troncoso, Elizabeth ¹, Pedreschi, Franco ² & Zúñiga, Rommy N. ¹

¹ Chemical & Bioprocess Engineering Department, Pontificia Universidad Católica de Chile. PO Box 306, 6904411. E-mail: edtronco@uc.cl

² Food Science and Technology Department, Universidad de Santiago de Chile

Key words: food processing, physical properties, vacuum frying, sensory evaluation, potato.

SUMMARY

Potato slices were fried at atmospheric and vacuum conditions until a final moisture content of -1.8% (dry basis) was reached. A multifactorial experimental design (3×2^2) was applied to analyze the effects of pretreatment, frying temperature and type of frying over instrumental (oil content, instrumental color and texture) and sensory quality parameters (color, hardness, crispness, oilness, color quality, flavor quality, texture quality and overall quality) of the fried potato slices. The type of frying and pretreatment had a strong effect on color parameters of the fried potato slices, while frying temperature had no effect over any response investigated. Vacuum frying was a significant effect ($p < 0.05$) improving the instrumental (L^* , a^* , b^* and ΔE) and sensory parameters of color. Potato slices pretreated with sulphite showed the best values for the color parameters after frying. None of the factors investigated had a significant effect ($p > 0.05$) on the following responses: oil content, maximum force, hardness, crispness, oilness, flavor quality, texture quality and overall quality. The levels selected for the best process conditions were: pretreatment with sulphite and vacuum frying of the potato slices at 120°C. Finally, significant correlations ($p < 0.05$) between sensory and instrumental responses for color and texture were found.

INTRODUCTION

Deep-fat frying is one of the oldest processes of food preparation and consists basically in immersion of food pieces in hot oil. The high temperature causes an evaporation of the water, which moves away from the food and through the surrounding oil. Oil is absorbed by food, replacing some of lost water. The aim of deep-fat frying is to seal the food by immersing it in the hot oil so that all flavors and the juices are retained by the crisp crust (Moreira et al., 1999).

During the frying process, the physical, chemical, and sensory characteristics of the food are modified. Texture, color and oil content are the main quality parameters of fried potatoes (Moreira et al., 1999). Texture is a critical parameter for fried potato quality and it was found to be directly related to specific gravity, total solids, starch content, cell size, and surface area and pectin (Moyano et al., 2007). For potato chips, a very crispy texture is expected all way through since crispness is an indicator of freshness and high quality (Moreira et al., 1999). Color is visually considered one of the most important parameters in the definition of quality of fried potatoes and is the result of the Maillard reaction that depends on the content of reducing sugars and amino acids or proteins at the surface, and the temperature and time of frying. A number of pretreatments have been found to have some merit in producing lighter color chips. Many chemical methods such as the use of sulphites have been used as antibrowning agents in foods. Although the safety of sulphiting agents has been questioned because sulphite produces health damage when it is consumed above permissible limit, in the United States the FDA has placed sulphur dioxide and several sulphite salts into the category of "generally accepted as safe" (GRAS) (Suh et al., 2007).

Many approaches to reduce oil absorption in fried products have been reported in the literature. The blanching step previous to frying in potato chip processing improves the color and texture, and reduces, in some cases, the oil uptake by gelatinization of the surface starch. Drying of potatoes before frying using hot-air treatment has resulted in a significant reduction in oil content of different products (Krokida et al., 2001). Recently, much attention has been given to the use of vacuum frying which may be an option to produce fried potatoes with low oil content and desired texture and flavor characteristics (Garayo & Moreira, 2002).

Atmospheric deep-fat frying necessarily occurs at high temperatures under atmospheric pressure. Surface darkening and many adverse reactions take place due to the high temperature treatment before the food is fully cooked or dried (Fan et al., 2005). Vacuum frying is a viable option to produce high quality dried fruit and vegetable in a far shorter processing time than conventional frying. The sample is heated under a negative pressure that lowers the boiling point of the frying oil and the water in the sample. Moreover, the absence of air during frying may inhibit oxidation reactions including lipid oxidation and enzymatic browning of samples can be largely preserved. Hence, dehydrated foods produced by vacuum frying can have crispy texture, good color and flavor and good retention of nutrients (Shyu & Hwang, 2001).

Vacuum frying is a viable option to produce high quality dried fruit and vegetable in a far shorter processing time than conventional frying. The sample is heated under a negative pressure that lowers the boiling point of the frying oil and the water in the sample. Thus, dehydrated foods produced by vacuum frying can have crispy texture, good color and flavor and good retention of nutrients (Shyu & Hwang, 2001).

The main objectives of this research were to study the effect of different factors (pretreatments, frying temperature and type of frying) on the physical and sensory properties of potato chips and to find processing conditions to obtain the best quality attributes of the final product.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Potatoes (variety Desireé) and vegetable oil (Chef®, Coprona, Chile) were the raw materials. Slices (thickness of 3 mm) were cut using an electric slicing machine (Berkel, model EAS65, UK). A circular cutting mold was used to provide chips with a diameter of 30 mm.

Sample preparation

The following pretreatments were used: (i) control or unblanched slices without predrying; (ii) blanched slices in hot water at 85°C for 3.5 min were air-dried at 60°C until they reached a final moisture of ~60% (dry basis), (iii) raw potato slices were soaked in a 3500 µg/mL sodium metabisulphite solution at 20°C for 3 min and pH adjusted to 3. The total concentration of sulphite was determined by the optimized Monier-Williams Method (AOAC, 1995).

Frying

Atmospheric and vacuum frying were carried out using the same equipment: an electrically heated and thermostatically controlled vessel. The fryer was filled with 3.5 L of oil and discarded after 6 h of use. Slices were fried at different times according to the type of frying, oil temperature and pretreatment, until reaching a final moisture contents of ~1.8% (dry basis). Moisture content of potato chips was measured according to the AOAC method (AOAC, 1984).

Vacuum deep-fat frying

In vacuum frying experiments the frying vessel was connected to a vacuum pump. Once the oil temperature reached the target value, the slices were placed inside the frying basket. The lid of the vessel was screwed and the vessel was depressurized. When the pressure in the vessel achieved 5.4 kPa, the basket was lowered and immersed in the oil. Finalized the frying time, the samples were removed from the fryer, blotted with tissue paper and allowed to cool to room temperature before analyses.

Atmospheric deep-fat frying

Pretreated potato slices were placed in the frying basket and once the oil temperature was reached the target value, the basket was immersed in the oil. Finalized the frying time, the samples were removed from the fryer, blotted with tissue paper and allowed to cool to room temperature before analyses.

Experimental design and statistical analysis

An experimental design was used to analyze the effect of the factors that affect the frying process through the following responses: oil content, instrumental color and texture and sensory evaluation. This procedure considered three factors: frying temperature at two levels (120°C and 140°C), type of frying at two levels (A: atmospheric and V: vacuum) and pretreatment of the slices at three levels (C: control; BD: blanched and dried and S: sulphited). This yielded a 3x2² type design with 12 experimental runs (Table 1). The statistical analysis was done with the software Statgraphics Plus (version 5.1). The statistical significance was analyzed by ANOVA tests (*p* < 0.05).

Design responses

Instrumental responses

The oil content was determined by the method of Bligh & Dyer (1959) and was expressed as g oil/g dry solid. Color was measured using a computer vision system. Total color difference (ΔE) between raw (L₀^{*}, a₀^{*}, b₀^{*}) and fried potato slices (L^{*}, a^{*}, b^{*}) was defined as:

$$\Delta E = \sqrt{(L_0^* - L^*)^2 + (a_0^* - a^*)^2 + (b_0^* - b^*)^2}$$

Texture measurements were done in a Texture Analyzer TA.XT2 (Stable Micro System, UK). A puncture test was employed with a speed test of 10 mm/s. The maximum force was obtained using the software Texture Expert.

Table 1. Standard matrix of multifactorial experimental design (3x2²)

Run	Pretreatment ¹	Temperature (°C)	Type of frying ²
1	C	120	A
2	C	120	V
3	C	140	A
4	C	140	V
5	BD	120	A
6	BD	120	V
7	BD	140	A
8	BD	140	V
9	S	120	A
10	S	120	V
11	S	140	A
12	S	140	V

¹ C: control, BD: blanched and dried, S: sulphited
² A: atmospheric, V: vacuum

Sensory responses

A panel of thirteen assessors was trained for quantitative descriptive analysis (QDA) and quality of potato chips. The response variables were obtained by means of a QDA on a 10 cm non-structured linear scale and a quality rating test on a 7 point numerical scale (1=very bad; 7=very good). The following QDA descriptors were selected: color intensity (pale yellow, dark yellow), hardness (soft, hard), crispness (none crispy, very crispy) and oilness (very low, very high). The measured attributes of the quality-rating test were color, flavor, texture and overall quality. Samples were randomly evaluated in 6 sessions (2 samples per session).

RESULTS AND DISCUSSION

Type of frying (factor C) was the most significant effect on the responses of the design (Table 2), getting the best responses under vacuum frying rather than atmospheric frying. Vacuum frying was a significant effect (*p*<0.05) over the instrumental (L^{*}, a^{*}, b^{*} and ΔE) and sensory parameters of color. Potato slices fried under vacuum had L^{*} values significantly (*p*<0.05) than the values corresponding to the slices fried under atmospheric conditions. A higher L^{*} values indicates a lighter color, which is desirable in these products. The a^{*} values were significantly higher (*p*<0.05) for potato slices fried at atmospheric pressure than those for fried at the vacuum conditions, indicating that more Maillard reaction occurred at the atmospheric frying conditions. The b^{*} values were also significantly higher (*p*<0.05) for potato slices fried at atmospheric pressure than for potato slices fried under vacuum. Sensory evaluation confirmed the results obtained with the computer vision system. Sensory panel evaluated the color of the potato slices fried at atmospheric conditions as darker and worst than potato slices fried at vacuum conditions. To quantify the improvement produced by vacuum frying on the instrumental and sensory parameters of color the percent change in the responses as shown in Table 3.

Table 2. Effects of the multifactorial experimental design (3x2²)

Response	Average	Effects ¹							sd ²
		A	B	C	AB	AC	BC		
Oil	Oil content (% db)	0.69	0.02	-0.03	0.09	0.09	-0.17	0.06	0.04
Instrumental Color	L [*]	62.86	15.24 ^(*)	6.26	11.22 ^(*)	2.22	-0.66	-8.65 ^(*)	1.41
	a [*]	3.62	-5.90 ^(*)	-1.79	-13.38 ^(*)	-4.28	-2.14	6.29 ^(*)	0.92
	b [*]	36.32	2.13	3.37	-5.51 ^(*)	-4.38	-5.73 ^(*)	-1.46	0.70
	ΔE	26.47	-11.39 ^(*)	-3.39	-18.35 ^(*)	-4.68	-3.15	8.16 ^(*)	1.54
Instrumental Texture	Maximum force	4.41	-1.19	-1.45	-1.97	-0.26	0.87	0.30	0.44
Sensory Descriptive Test (QDA) ³	Color	5.45	-0.41	-0.15	-2.16 ^(*)	-0.29	0.37	0.30	0.29
	Hardness	5.90	0.09	-0.79	-1.40	-0.75	-0.30	0.59	0.30
	Crispness	6.46	-0.84	-0.77	-1.19	-0.70	-0.51	-0.06	0.27
	Oilness	6.84	-0.11	-0.27	0.06	0.63	-0.33	0.06	0.17
Sensory Quality ⁴	Color quality	4.40	-0.52	0.25	1.19 ^(*)	0.66	-0.18	-0.20	0.23
	Flavor quality	4.15	-0.86	0.18	0.74	-0.08	0.32	-0.36	0.20
	Texture quality	4.36	-0.93	-0.15	0.72	-0.63	-0.51	-0.69	0.32
	Overall quality	4.30	-1.00	0.16	1.00	0.13	-0.07	-0.25	0.23

* (*p* < 0.05)
¹ A: pretreatment, B: temperature, C: type of frying
² Standard deviation of mean value
³ Values based on a descriptive scale of 10 cm length
⁴ Values based on a sensory 7-point quality scale

Table 3. Percent change in the response by switching from atmospheric to vacuum frying

Response	Variable	Response	
		Change (%)	
Instrumental Color	L*	+83.6	
	a*	-335.4	
	b*	-116.4	
	ΔE	-206.1	
Sensory Descriptive Test (QDA)	Color	+149.3	
Sensory Quality	Color quality	+76.2	

The type of pretreatment used (factor A) affected significantly ($p < 0.05$) only the instrumental parameters of color (Table 3). Sulphited potato slices showed the best values for the color parameters after frying. It is known that sulphite is an excellent antibrowning agent (Suh et al., 2007) which was confirmed by the results of this research.

Frying temperature had no significant effect over any response, probably because the difference between the upper and lower level of this factor used in the experimental design was too small. None of the factors investigated had a significant effect ($p > 0.05$) on the following responses: oil content, maximum force, hardness, crispness, oiliness, flavor quality, texture quality and overall quality.

From the results obtained of experimental design and taking into account only the statistically significant effects over color responses, the level of the factors which minimize or maximize each response were determined (Table 5).

Table 4. Selected levels of the experimental factors for the statistically significant responses

Response	Variable	Effects		
		Pretreatment	Temperature (°C)	Type of frying
Instrumental Color	L*	Sulphited	*	Vacuum
	a*	Sulphited	*	Vacuum
	b*	*	*	Atmospheric
	ΔE	Sulphited	*	Vacuum
Sensory Descriptive Test (QDA)	Color	*	*	Vacuum
Sensory Quality	Color quality	*	*	Vacuum

* no significant effect

From the significant factors shown in Table 4, the levels selected for the best process conditions were: pretreatment with sulphite and vacuum frying of the potato slices. Since frying temperature was not significant, a temperature of 120°C was chosen considering a practical and economical point of view. At these selected levels, sensory attributes of color, flavor, texture and overall quality exhibited values of 5.0 (fairly good), 5.0 (fairly good) 6.0 (good) and 5.0 points (fairly good), respectively.

Significant correlations ($p < 0.05$) between sensory and instrumental responses were found (Table 5) indicating that both sensory and instrumental methods are suitable for the measurement of color and texture parameters.

Table 5. Significant correlations ($p < 0.05$) between sensory and instrumental responses

Instrumental Response	Variable	Response	Correlation Coefficient
Color	L*	Color	-0.708
	a*	Color	0.806
	ΔE	Color	0.810
	a*	Color quality	-0.682
	ΔE	Color quality	-0.634
Texture	Maximum force	Hardness	0.813
	Maximum force	Crispness	0.834

CONCLUSIONS

The physical and sensory properties of potato chips were investigated by means of an experimental design. The type of frying and pretreatment had a strong effect on color parameters of the fried potato slices, while frying temperature had no effect over any response. Vacuum frying improved the instrumental (L*, a*, b* and ΔE) and sensory parameters of color. Sulphited potato slices showed the best values for the color parameters after frying. None of the factors investigated had a significant effect ($p > 0.05$) over the oil content, maximum force, hardness, crispness, oiliness, flavor quality, texture quality and overall quality. The levels selected for the best process conditions were: pretreatment with sulphite and vacuum frying of the potato slices at 120°C. Finally, significant correlations ($p < 0.05$) between sensory and instrumental responses for color and texture were found.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors acknowledge the collaboration of Professor Pedro Moyano.

REFERENCES

- AOAC Association Official Analytical Chemists (1984). The official methods of analysis. Method 28.074. Arlington, VA: AOAC.
- AOAC Association Official Analytical Chemists (1995). The official methods of analysis. Method 990.28. Arlington, VA: AOAC.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. A. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 37, 911-917.
- Fan, L., Zhang, M. & Mujumdar, A.S. (2005). Vacuum frying of carrots chips. Drying Technology, 23, 645-656.
- Garayo, J. & Moreira, R. (2002). Vacuum frying of potatoes chips. Journal of Food Engineering, 55, 181-191.
- Krokida, M.K., Oreopoulou, V., Maroulis, Z.B. & Marinou-Kouris, D. (2001). Deep fat frying of potato strips—quality issues. Drying Technology, 19, 879-935.
- Moreira, R., Castell-Perez, M.E. & Barrufet, M.A. (1999). Deep-fat Frying: fundamentals and applications. Aspen Publishers, Inc., Maryland.
- Moyano, P.C., Troncoso, E. & Pedreschi, F. (2007). Modeling texture kinetics during thermal processing of potato products. Journal of Food Science, 72, 102-107.
- Shyu, S. & Hwang, L. (2001). Effects of processing conditions on the quality of vacuum fried apple chips. Food Research International, 34, 133-142.
- Suh, H., Cho, Y., Chung, M. & Kim, B. (2007). Preliminary data on sulphite intake from the Korean diet. Journal of Food Composition and Analysis, 20, 212-219.

EFICIENCIA DEL ENSILADO ACIDO EN DESECHOS DE CAMARON PARA LA EXTRACCION DE ASTAXANTINA

M. E. Franco-Zavaleta ^{1*}, E. Ponce-Alquicira ¹, G.F. Gutiérrez-López ², I. Guerrero-Legarreta ¹
¹Departamento de Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México, D.F. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina, México D.F., C P 09340. Tel. (55) 58 04 47 26. Fax (55) 58 04 47 12. ²Departamento de Alimentos. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. E-mail: framir90@yahoo.com.mx; meat@xanum.uam.mx

Palabras clave: astaxantina, desechos de camarón, ensilado, fermentación láctica

RESUMEN

El ensilado ácido ha sido estudiado como un proceso para la estabilización de desechos de camarón, previo a la extracción de astaxantina, un carotenoide utilizado en la dieta de salmonidos para incrementar su color. El objetivo del presente trabajo fue comparar la eficiencia de los ensilados químico y bacteriano con respecto a la acidificación de los desechos y el rendimiento en la extracción de astaxantina. Desechos de camarón (*Litopenaeus vannamei*) fueron mezclados con ácidos fórmico-acético 4%-4% (v/p desechos) y en el bacteriano se adicionó un inóculo de bacterias lácticas. Los ensilados fueron sometidos a la extracción del pigmento, obteniéndose un residuo sólido y el licor; los carotenoides fueron determinados como xantofilas totales y cuantificados por HPLC. Los ensilados químico y bacteriano promovieron una disminución de pH desde 8.2 hasta valores de 3.5 y 4.5 respectivamente. Ambos ensilados mostraron poca diferencia en el contenido de humedad, cenizas, proteínas y lípidos, con respecto a los desechos de camarón frescos. El ensilado químico presentó mayor contenido de xantofilas totales (± 0.80660 mg/g desechos), con respecto al bacteriano (± 0.38084 mg/g desechos); mientras que ambos ensilados químico y bacteriano mostraron valores semejantes en la concentración de astaxantina ($3.237E-03$ y 3.234 mg/mL de licor respectivamente). Se observó igual eficiencia en ambos ensilados en la extracción de astaxantina, aunque el ensilado químico presenta la desventaja de no ser inocuo.

INTRODUCCIÓN

El pigmento más abundante en desechos de camarón es la astaxantina, de la familia de los carotenoides. Debido a su color, la astaxantina es utilizada principalmente en la acuicultura para la formulación de dietas y lograr la pigmentación de algunas especies como truchas y salmones, lo que aumenta el precio de mercado de su carne. Actualmente, el 95% del mercado mundial de astaxantina está cubierto por el pigmento sintético con un alto costo; sin embargo, el uso de colorantes sintéticos es cada vez más restringido debido a su posible toxicidad, incrementándose el interés por encontrar nuevas fuentes naturales del pigmento.

Por otra parte, los procesos para la obtención de astaxantina a partir de desechos de crustáceos pueden consistir en una extracción directa con disolventes orgánicos (Meyers y Bligh, 1981); o utilizando aceites de origen animal o vegetal (Shahidi y Synowiecki, 1991; recientemente, otras metodologías reportan a los ensilados ácidos como un tratamiento eficiente de los desechos de camarón, como un proceso previo a la extracción del pigmento (Guerrero y col., 1996; Armenta, y col., 2002).

Este proceso del ensilado ácido puede ser una alternativa para la preservación y estabilización de estos desechos debido a la acción de ácidos los cuales pueden ser adicionados directamente en su forma química (ácidos orgánicos y/o inorgánicos) o bien producidos por vía microbiana empleando bacterias lácticas, de esta forma se promueve una disminución del pH suficiente y adecuada para evitar el crecimiento de microorganismos no deseables (Saisithi, 1994).

El objetivo del presente trabajo fue comparar la eficiencia del ensilado químico y bacteriano en la extracción de astaxantina, así como la identificación y cuantificación de los pigmentos carotenoides en los ensilados.

METODOLOGIA

Se utilizaron desechos de camarón, procedentes de animales capturados en el Océano Pacífico (*L. vannamei*) los cuales fueron descongelados y molidos. De pruebas preliminares se seleccionó la combinación de ácidos orgánicos más eficiente, los desechos de camarón fueron mezclados con la combinación de ácidos fórmico-acético 4%-4% (v/p residuo) y almacenados 4°C por 24 horas (Rouvinen, 2001); mientras que en el ensilado bacteriano se les adicionó 10% de dextrosa y 5% (v/p) de un inóculo de *Pediococcus pentosaceus* (Armenta y col. 2002), almacenados a 30°C por 48 horas. Ambos ensilados fueron colocados en frascos ámbar y protegidos con antioxidantes BHA y BHT. Posteriormente, los pigmentos (xantofilas totales) fueron extraídos con éter de petróleo-acetona-agua (15:75:10) en agitación a 200 rpm por 3 horas y analizados por espectrofotometría (Armenta y col., 2002), la concentración de astaxantina fue analizada por HPLC fase reversa (Guillou, 1995). También se determinó el contenido de humedad, cenizas, proteína total (Kjeldahl) y lípidos totales (Soxhlet) en ambas fracciones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Después del ensilado, en ambos casos el producto obtenido presentó una consistencia semilíquida. Tanto el ensilado químico como bacteriano promovieron una disminución de pH desde 8.2 hasta valores de 3.5 y 4.5 respectivamente, valores aceptables para un ensilado adecuado (pH menor de 4.5 y mayor de 2) reportados por Aranson (1994). Ambos ensilados mostraron una disminución en el contenido de cenizas y proteínas con respecto al residuo fresco, observándose menor pérdida en el ensilado químico con valores de 16% y 0.5% para cenizas y proteínas, mientras que el bacteriano tuvo pérdida del 26% y 15% respectivamente. El contenido de lípidos disminuyó de manera similar en ambos ensilados con pérdidas del 8% y 2% para ensilados químico y bacteriano respectivamente, debido a reacciones de oxidación, pese al uso de antioxidantes. Después de la extracción de pigmentos, las proteínas se concentraron en el residuo sólido, mientras que los lípidos se solubilizaron en el licor (Tabla 1).

Tabla 1. Composición de los ensilados y sus fracciones

Proceso de extracción	Fracción	Humedad	Ceniza	Proteínas	Lípidos
ENSILADO QUIMICO Extracción-centrifugación Ácidos fórmico-acético (4%-4% v/p)	materia prima	78.6	18.74	44.92	9.96
	residuo ensilado	79.7	15.78	44.69	9.13
	licor	na	na	12.00	8.74
	residuo sólido	53.03	5.35	32.69	0.39
ENSILADO BACTERIANO Extracción-centrifugación Bacterias lácticas (5% v/p)	materia prima	78.6	18.74	44.92	9.96
	residuo ensilado	73.5	13.83	37.98	9.76
	licor	na	na	1.83	7.73
	residuo sólido	65.6	12.74	31.15	2.03

El mayor contenido de xantofilas totales fue observado en el licor del ensilado químico (± 0.80660 mg/g desechos), con respecto al bacteriano (± 0.38084 mg/g desechos). Los cromatogramas obtenidos del licor tanto del ensilado químico y bacteriano mostraron picos semejantes con tiempos de retención de 1.852 y 1.815 min respectivamente, y correspondieron al estándar de astaxantina (tiempo de retención=1.8 min). Asimismo, los ensilados químico y bacteriano mostraron valores semejantes en la concentración de astaxantina (3.237E-03 y 3.234 mg/mL de licor respectivamente). También en el licor del ensilado químico se observó un pequeño pico en 1.70 min correspondiente al astaceno (6.085E-04 mg/mL licor) mientras que en el bacteriano no se detectó la presencia de astaceno, mostrando que aparentemente en este ensilado la degradación del pigmento fue menor (Tabla 2).

Tabla 2. Análisis cuantitativo de los ensilados

Ensilado	Fracción	Xantofilas totales (mg/g desechos)	Astaxantina (mg/mL licor)	Astaceno (mg/mL licor)
QUIMICO Extracción-centrifugación Ácidos fórmico-acético (4%-4% v/p)	Licor	0.80660	3.237E-03	6.085E-04
BACTERIANO Extracción-centrifugación Bacterias lácticas (5% v/p)	Licor	0.38084	3.234E-03	0

CONCLUSIONES

Durante el ensilado ácido las sales de calcio contenidas en estos desechos son disueltas y por consiguiente la astaxantina presentó mayor disponibilidad, mejorando el rendimiento en la extracción del pigmento; asimismo se observaron cambios mínimos en los componentes de los desechos. Se observó igual eficiencia en ambos ensilados en la concentración de astaxantina, aunque el ensilado químico presenta la desventaja de no ser inocuo, por lo que puede considerarse al ensilado bacteriano como una buena alternativa para la preservación del material.

BIBLIOGRAFÍA

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2001. Official Methods of Analysis. 15th Edition. Washington D.C.

Aranson S. 1994. Production of fish silage. En: Fisheries Processing: Biotechnological Applications. Martin, A.M. (Ed.). Chapman & Hall, Londres, Gran Bretaña, pp. 244-272

Armenta, R., Huerta, S. y Guerrero, I. 2002. Astaxanthin extraction from shrimp waste by lactic fermentation and enzymatic hydrolysis of the carotenoprotein complex. *J. Food Sci.*, 67(3):1002-1006.

Guerrero, I., Zakaria, Z. y Hall, G.M. 1996. Lactic fermentation of prawn waste: comparison of commercial and isolated starter cultures. En *Advances in Chitin Science: Volume 1*. Domard, A., Jaeniaux, C., Muzzarelli, R. y Roberts, G. (Eds.). Editorial Jacques André, Lyon, Francia, pp. 399-406

Guillou, A., Khalil, M., Adamounou, L. 1995. Effects of silage preservation on astaxanthin forms and fatty acid profiles of processed shrimp (*Pandalus borealis*) waste. *Aquaculture.*, 130:351-360.

Meyers, S., y Bligh, D. 1981. Characterization of astaxanthin pigments from heat-processed crawfish waste. *J. Agric. Food Chem.*, 29:505-508.

Rouvinen, Kirsti. 2001. Feeding fish silage to fur bearers. Department of Agriculture and Fisheries. Nova Scotia Agricultural College. Nueva Escocia.

Shahidi, F. y Synowiecki, J. 1991. Isolation and characterization of nutrients and value-added products from snow crab (*Chionoecetes opilio*) and shrimp (*Pandalus borealis*) processing discards. *J. Agric. Food Chem.*, 39:1527-1532

Saisithi P. 1994. Traditional fermented fish. En: Fisheries Processing: Biotechnological Applications. Martin, A.M. (Ed.). Chapman & Hall, Londres, Gran Bretaña, pp. 111-131

TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA DE MARINADO Y AHUMADO TRADICIONAL EN CALIENTE A LA POBLACIÓN DE PESCADORES DE CHICHIRIVICHE DE LA COSTA. ESTADO FALCÓN VENEZUELA

Rodríguez, Jaime; González, María y Mujica, Mauris. Transferencia Tecnológica de Marinado y Ahumado Tradicional en Caliente a la Población de Pescadores de Chichiriviche de la Costa. Estado Falcón Venezuela Universidad Nacional Experimental "Francisco de Miranda." Área de Tecnología. Programa de Ingeniería Pesquera. Punto Fijo, Estado Falcón. Venezuela.

Palabras Claves: Procesamiento, Ahumado, Ahumador Tradicional, Capacitación.

RESUMEN

El objetivo principal de este trabajo fue realizar la Transferencia Tecnológica de Ahumado; se llevo a cabo la capacitación en cuanto a las técnicas de manipulación y conservación de productos pesqueros y fabricación de un horno tradicional. Se elaboró un manual para los participantes donde se describió de manera básica y sencilla cada uno de estos aspectos. La transferencia se realizó con la participación de 30 personas de la localidad quienes participaron en elaboración de los productos, desde la recepción hasta el almacenamiento. Por otra parte, se llevo a cabo el proceso de elaboración del pescado ahumado. Se prosiguió a efectuar los análisis bromatológicos y bacteriológicos del producto final para determinar la calidad de este, siguiendo las normas COVENIN 3086:1994 para pulpa de pescado; el ahumado tuvo una duración mínima de 4 horas alcanzando una temperatura promedio de 77 grados centígrados, determinando que en estas condiciones se obtuvo un producto ahumado con un porcentaje de aceptación del 100 % resultado obtenido a través de la aplicación de un test de degustación. Seguidamente se procedió a la estimación de costos para la construcción del ahumador estipulando que el mismo tiene un valor de 407.160 bolívares, de igual forma se estimó el valor del producto ahumado el cual se encuentra en 11.580 Bs / Kg para la mojarra, el sábalo 15.780 Bs / Kg y el róbalo 18.180 Bs / Kg. Finalmente se evaluó el proceso de transferencia tecnológica donde se determinó una amplia aprobación por parte de la comunidad; ya que la misma manifestó interés en la creación de Cooperativas dedicadas a la elaboración de pescado ahumado.

INTRODUCCIÓN

Hoy en día se hace necesario e imprescindible implementar acciones y mecanismos que permitan mejorar y adecuar las condiciones para el manejo, el procesamiento, la conservación y comercialización de productos pesqueros; motivando a varios factores como: evitar las pérdidas post-captura; incrementar la producción de alimentos con alto contenido proteico para la población; mejorar las condiciones higiénico-sanitarias como medidas de salud pública; promover el desarrollo del sector pesquero artesanal en cuanto al procesamiento de estos recursos; así mismo adecuarse a las condiciones de calidad para comercializar productos pesqueros además de incentivar y mejorar las condiciones de la actividad artesanal y, finalmente desarrollar actividades de investigación por parte de los institutos y centros dedicados a estas tareas. Es importante destacar que en este proyecto se llevará a cabo la capacitación de la comunidad de pescadores de Chichiriviche de la Costa, en la cual se enfatizará que el pescado es un alimento, por lo cual debe tratarse como tal, con toda la rigurosidad que cualquier otro alimento, sabiendo que el pescado es uno de los productos alimenticios más perecederos existentes por lo que se deben extremar las condiciones de su adecuado manejo las cuales van a depender de cómo fue tratado inmediatamente después de la captura. Como aspecto fundamental de esta investigación se plantea el vínculo entre las actividades de pesca con la tecnología del manejo, procesamiento, conservación, control de calidad y comercialización de los productos pesqueros. Sin embargo la capacitación del pescador pasa a ser uno de los principales objetivos de esta investigación además de ampliar los productos derivados de la pesca a través de tecnologías tradicionales realizadas a nivel artesanal, tal como el ahumado tradicional en caliente y el marinado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Capacitación en las Técnicas de Elaboración y Conservación de Ahumado. Se capacitó a la comunidad de pescadores (30) mediante un curso teórico- práctico que cumplió con los pasos que se deben ajustar para la elaboración de pescado ahumado y así incursionar en las actividades de comercialización de productos pesqueros que puedan ser proyectados a la venta, para obtener mayores ingresos que puedan contribuir a satisfacer las necesidades de la comunidad.

Construcción y Validación del Funcionamiento del Ahumador Artesanal. En esta etapa se llevó a cabo la fabricación del ahumador tradicional con materiales de construcción de bajo costo; determinando que están al alcance de los ingresos percibidos por los pescadores de la comunidad. Además de la validación del funcionamiento del mismo, se mantuvo en cuenta la relación entre las variables tiempo -

Realización de Análisis Bromatológicos y Bacteriológicos a los Productos Obtenidos. En esta etapa se realizaron análisis bromatológicos y bacteriológicos a el producto final (Pescado ahumado). Los resultados de los análisis obtenidos fueron comparados con los parámetros establecidos por las normas COVENIN pulpa de pescado.

Determinación del Grado de Aceptación del Producto. Etapa en la cual se consideró un panel de comensales no entrenado de 30 personas que degustaron los productos obtenidos, a los cuales les aplicaron una evaluación organoléptica; mediante un test de consumidores el cual estuvo comprendido por preguntas claras y comprensibles que pudieron determinar la aceptación del producto. Para el mismo se utilizó una escala hedónica de 5 puntos; obteniendo como resultados que los atributos Olor, Color, Sabor y Textura alcanzando el porcentaje mas alto la opción "Me Gusta Mucho".

Determinación de Costos. Se determinaron los costos relacionados con la construcción del ahumador tradicional, incluyendo materiales de construcción, mano de obra y costos relacionados con la obtención de la materia prima tanto para el ahumado.

RESULTADOS

Para la capacitación de la comunidad de pescadores de Chichiriviche, la misma consto de 3 etapas. La primera consistió en la elaboración de los manuales y recursos audiovisuales necesarios; la segunda etapa estuvo referida a la construcción del ahumador tradicional y la tercera etapa en la ejecución y evaluación de los talleres, para el cual se contó con apoyo económico y logístico del Decanato de Extensión y Producción de la Universidad Nacional Experimental "Francisco de Miranda"; de igual forma se contó con la colaboración del Consejo Comunal y pescadores de la localidad. Para la creación de los manuales utilizados en la capacitación, se siguieron las pautas establecidas por el Decanato de Extensión y Producción de la UNEFM para la ejecución de este tipo de programas, se definieron de manera sencilla y detalla los objetivos y contenidos de cada tema; seguidas por las estrategias a utilizar y el tipo de evaluación a aplicar que permitieron un alto nivel de comprensión.

Para la elaboración de los manuales que sirvieron como material de apoyo para los participantes en el programa, se revisaron diferentes bibliografías donde se recopilaban las informaciones necesarias para la estructuración de los manuales. Dichos manuales constaron con la información referida a Manipulación del Pescado, Conservación de Productos Pesqueros (Marinado y Ahumado en Caliente) y la Construcción del Ahumador Tradicional, donde se resaltó los

aspectos más importantes, representándose de manera ilustrativa y sencilla cada uno de los contenidos, con la finalidad de facilitarles a los lectores una mayor comprensión. La construcción del ahumador tradicional es un proceso sencillo que dependió de la creatividad, la practicidad y de la accesibilidad al material de construcción, el cual fue de bajo costo y de fácil adquisición y que a su vez fue construido por varias personas. A continuación se describen los materiales y equipos que fueron necesarios para la construcción del ahumador tradicional: 4 Láminas de lata galvanizada de 1*2 metros, 4 Alambres de 9/32" 7 MM x 6 mts., 3 Tubos cuadrado de 1/2" x 1/2", Malla cedazo galvanizada 10x10 cal 29, 100 Remaches 3/16"x 5/8", 100 Remaches 3/16"x 3/8", 50 Remaches 3/16"x 1/8", 2 Bisagras de 3 pulgadas, 2 Trancador rápido trac 5, Máquina de soldar, Sierra eléctrica, Esmeril, 2 Mechas calibradas, Manillas, Taladro, Dobladora manual, 1 Metro, Tijera y Cizalla.

En la construcción de la cámara de ahumado se verificó que fuese de tamaño amplio lograr una completa y cómoda manipulación del pescado, además de permitir una mayor capacidad en kilogramos del producto evitando así el contacto de este con las paredes internas del mismo. La cámara de ahumado posee las siguientes dimensiones 88 cm de alto x 94 cm de ancho x 61.5 de largo. La puerta de la cámara de ahumado tiene las medidas siguientes; 94 cm de ancho x 88 cm de alto, con el fin de poder manipular los colgaderos de manera adecuada y verificar sin ningún inconveniente el grado de cocción del alimento.

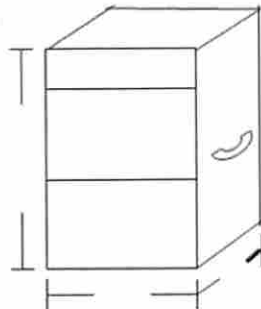


Figura N° 1: Cámara de Ahumado.

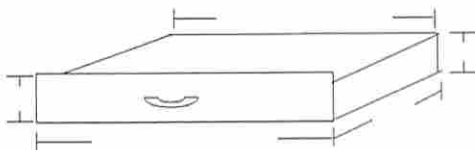


Figura N° 2. Cámara de Combustión

La cámara esta diseñada en forma de gaveta, en ella se realizó el proceso de combustión en el que se colocó una carga de 5 Kg aserrín y 800 gr de carbón y permite que el humo que se genere llegue a la cámara de ahumado, esta tiene el espacio adecuado para situar la carga del material para llevar a cabo la ignición. Esta tiene unas medidas de 20 cm de alto x 96 cm de ancho x 60 cm de largo, las mismas con el propósito de evitar algún accidente al momento de manipular la carga.

La chimenea esta construida con un área de 24,2 cm y un alto de 36,6 cm con el propósito de que exista una mayor fluidez del humo al ambiente.

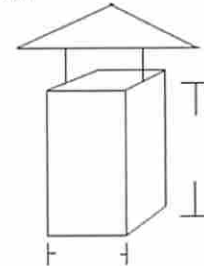


Figura N° 3. Chimenea.

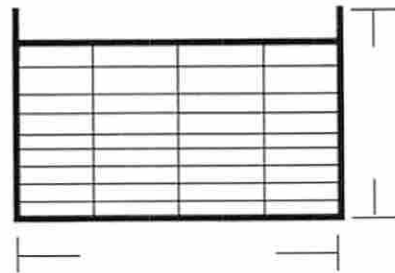


Figura N° 4. Colgaderos.

Para la fabricación de los colgaderos se utilizaron tubos cuadrados 1/2" x 1/2", alambres de 9/32" y anzuelos números 6, estos están distribuidos en la cámara de ahumado en forma de parrilla, estas tienen unas dimensiones de 93 cm de largo x 59.5 cm de ancho y la separación entre ambas parrillas es de 44 cm; de tal forma que se obtenga un mayor aprovechamiento del espacio destinado para la cocción del producto, y así evitar el contacto entre filete y filete.

Composición Bromatológica y Microbiológica de los Productos Ahumados.

En las tablas N° 1, 2, y 3 se puede observar la composición bromatológica, microbiológica de la materia prima y de los productos ahumados y los costos necesarios para la construcción del ahumador.

Tabla N° 1. Composición Bromatológica del Pescado Ahumado de Acuerdo con las Normas COVENIN.

Muestra.	Proteínas %	Humedad %	Cloruro de Sodio %	Grasas %
Pescado Fresco.	Min. 16 – Máx. 21	Min 70 – Máx. 82	0.0245	18
Pescado Ahumado.	19.68	37.92	3.58	3.53

Tabla N° 2. Composición Bacteriológica del Pescado Ahumado de Acuerdo a lo Establecido en las Normas COVENIN.

Muestra	Coliformes totales (NMP/g)	Coliformes fecales (NMP/g)	Salmonella	Aerobios mesofílos (UFC/g)
Pescado Fresco.	> 1.100	> 1.100		Min 1.0*10 ⁶ Máx. 1.0*10 ⁷
Pescado Ahumado.	> 1.100		Ausente	9.4*10 ⁴

Tabla N° 3. Costos de Materiales para la Construcción del Ahumador.

Materiales.	Cantidad.	Precio Unitario Bs.	Total Bs.
Láminas de lata galvanizada de 1*2 metros.	4	33.954	135.816
Alambrón de 9/32" 7 MM x 6 mts	4	4.531	18.124
Tubos cuadrado de 1/2" x 1/2".	3	7.711	23.333
Malla cedazo galvanizada 10x10 cal 29	2	8.171	16.342
Remache 3/16"x 5/8".	100	6.513	6.513
Remache 3/16"x 3/8	100	3.784	3.784
Remaches 3/16"x 1/8".	100	2.703	2.703
Bisagras de 3 Pulgadas	2	567	1.702
Trancador rápido tras5	2	2.891	5.855
Mechas calibradas	2	6.567	13.134
Mano de Obra			150.000
Anzuelos	30	450	13.512
TOTAL:			407.160

CONCLUSIONES

- La capacitación llevada a cabo en la comunidad de pescadores de Chichiriviche de la Costa fue exitosa alcanzando a adiestrar 30 personas de la localidad; en cuanto a las normas higiénico- sanitarias, las técnica de elaboración y conservación de productos pesqueros tales como el marinado y el ahumado en caliente, así como también en la fabricación de un horno tradicional.
- Se logró la validación y funcionamiento del ahumador mediante diferentes pruebas pilotos; las cuales dieron como resultados que con una carga de combustible de 4 kilogramos de aserrín y 800 gramos de carbón se generaron las temperaturas adecuadas para el proceso de ahumado las mismas oscilaban entre 60 °C y 90 °C, por un tiempo mínimo de 4 horas.
- Para la elaboración del pescado ahumado se utilizaron las especies Mojarra, Sábalo y Róbalo, que fueron capturadas por los pescadores artesanales de la localidad.
- Los resultados de los análisis bromatológicos para el pescado ahumado fueron: de humedad 37.92 % proteínas 19.68 %, grasas 3.53 % y cloruro sodico (NaCl) 3.85 %.
- Los análisis bacteriológicos del pescado ahumado dieron como resultado: *Salmonella* ausente, coliformes totales > 1.100 UFG/g, coliformes fecales ausente, mesófilos aerobios $9.4 * 10^4$ UFG/g.
- La aceptación de los productos obtenidos, a través de las pruebas de degustación aplicada a los participantes, demostraron que el mayor porcentaje lo obtuvo la opción "Me Gusta Mucho".
- En base a la estimación del costo total para la fabricación del ahumador se determinó que el mismo tiene un valor de 407.160 bolívares y para las especies utilizadas 11.580 Bs /Kg de la mojarra, el sábalo 15.780 Bs / Kg y 18.180 Bs /Kg para el róbalo.
- En la evaluación del proceso de transferencia realizado por los participantes, el mismo fue clasificado como una alternativa que les permitirá incrementar sus ingresos económicos; además de elaborar nuevos productos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ❖ Comisión de las Normas Venezolanas Industriales (COVENIN). (1994). N° 3086. Requerimiento para Pulpa de Pescado.
- ❖ FAO. 1999. Procesamiento de la Postcosecha: el Horno Chorkor. [Documento en Línea]. [Disponible en: http://www.fao.org/bestpractices/content/06/06_02_es.htm]. [Consulta: 02/02/2007].
- ❖ FAO. 1998. El Pescado Fresco: su Calidad y Cambios de su Calidad. [Documento en Línea]. [Disponible en: <http://www.fao.org/DOCREP/V7180S/v7180s01.htm#TopOfPage>]. [Consulta: 02/02/2007].
- ❖ Friss, C y Vitancurt, J. 2003. Ahumados de Especies de Pescado de Bajo Valor Comercial. [Documento en Línea]. [Disponible en: <http://www.pes.fvet.edu.uy/03ahuma.htm>]. [Consulta: 03/02/2007].
- ❖ Sosa, J y Veroes, C. 2006. Transferencia de Tecnología de Ahumado en Caliente del Catáco (*Selar crumenophthalmus*) a la Comunidad Pesquera de Las Piedras, Estado Falcón. Trabajo Especial de Grado para Optar al Título de Ingenieros Pesqueros. Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda.
- ❖ Walker, K. 1995. Manual Practico del Ahumado de los Alimentos. Editorial ACRIBIA S.A. España.

ESTUDO EXPERIMENTAL DA SECAGEM DE FATIAS DE CAJU (*Anacardium occidentale L.*) EM SECADOR DE BANDEJAS.

¹Aragão, R. F., ²Alsina, O. L. S., ³Guedes, A. M., ²Cavalcante, J. A.

¹Unidade Acadêmica de Engenharia Agrícola – Universidade Federal de Campina Grande

²Unidade Acadêmica de Engenharia Química – Universidade Federal de Campina Grande

³Unidade Acadêmica de Engenharia Mecânica – Universidade Federal de Campina Grande

Av. Aprígio Veloso, 882 – CEP: 58109-970 – Campina Grande – PB – Brasil

Telefone: (83) 3310-1115 – Fax: (83)3310-1114 – Email: renato@deag.ufcg.edu.br

Keywords: secagem convectiva, caju

RESUMO

Os secadores de bandeja constituem uma família importante de secadores convectivos, são caracterizados pela simplicidade de construção e operação e pelo baixo custo de manutenção, consiste basicamente de uma câmara com isolamento térmico, com sistemas de aquecimento e ventilação do ar através das bandejas. O ar aquecido circula através do produto impulsionado por meio de ventiladores promovendo a secagem, este tipo de secador é adaptável à secagem de qualquer produto que possa ser posto nas bandejas, é muito utilizado para secagem de frutas e hortaliças.

No presente trabalho foi analisados e discutidos os resultados obtidos no secador de bandejas para a secagem das fatias de caju, no que diz respeito as curvas de secagem em cada bandeja, a evolução da temperatura da fruta, a umidade relativa e a temperatura do ar após cada bandeja, os dados obtidos serão discutidos levando em consideração as variáveis envolvidas no processo, temperatura do ar de secagem, espessura do leito de fatias de caju e velocidade do ar de secagem.

INTRODUÇÃO

Os maiores produtores mundiais de castanha de caju referentes ao ano de 2006 são: Vietnam com uma produção de 827.000 t seguido da China com 460.000 t e Brasil 251.268 t. (IBGE, 2007).

Segundo ANDRIGUETO e KOSOSKI, (2005), a região Nordeste possui em torno de 500 mil hectares cultivados com fruteiras, correspondendo a 23% da área nacional ocupada com plantações de frutas. As priorizadas no PIF (produção integrada de frutas) são: caju nos estados do Ceará e Rio Grande do Norte, manga nos estados de Pernambuco, Bahia e Piauí, uva de mesa Pernambuco e Bahia, coco no estado de Sergipe e citros na Bahia, Sergipe e Piauí.

Com a indiscutível necessidade de se aumentar a produção de frutas e ampliar as exportações, torna-se imprescindível reduzir as perdas que ocorrem em toda a cadeia produtiva. Nos países emergentes as perdas são estimadas em 50% para alguns produtos agrícolas. Nossa realidade não é diferente, desde o produtor até o consumidor, a magnitude das perdas é considerável. Este fato evidencia a urgente necessidade de processos simples e baratos, que possam oferecer caminhos para conservar estes alimentos extremamente perecíveis. (MELONI, 2003).

Em virtude disto existe uma grande preocupação dos pesquisadores no que diz respeito ao desenvolvimento de novas tecnologias para conservação dos produtos agrícolas.

A secagem de fatias de caju em secadores convencionais de bandejas e em secadores solares são alternativas para atender aos pequenos produtores, que com a utilização desta técnica, possam agregar valor aos seus produtos, minimizar as perdas, e conseqüentemente aumentar a renda familiar e desta forma permanecer no campo, diminuindo o êxodo rural.

MATERIAIS E METODOLOGIA

Matéria-prima: Foi utilizado pseudofruto do cajueiro (*Anacardium occidentale L.*) da variedade CP-76, adquiridos no comércio local, com boa aparência, consistência e ausência

de danos físicos. Foram lavados em água corrente e enxutos com papel absorvente. Na Figura 1 são apresentadas fotos do pedúnculo do caju.

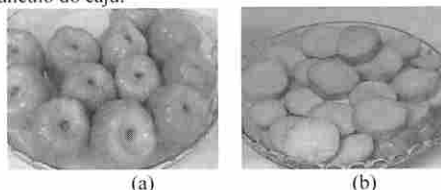
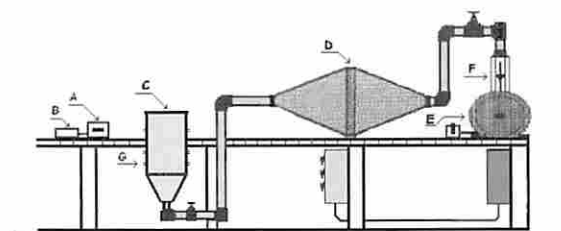


Figura 1. Fotos do pedúnculo do caju: (a) pedúnculos inteiros e (b) pedúnculos em fatias.

Equipamento: Para a realização deste trabalho foi utilizado o secador de leito fixo, cujo esquema é apresentado na Figura 2. A câmara de secagem consiste em uma seção cilíndrica construída em chapa de ferro com 17,80 cm de diâmetro e 60 cm de altura. Possui uma seção inferior tronco-cônica que funciona como um distribuidor de ar onde são colocadas pequenas esferas de vidro, distribuídas aleatoriamente, para que haja uma melhor uniformidade do ar de secagem em todo o leito. A câmara é isolada termicamente com lã de vidro as suas laterais contêm furos onde são colocados sensores para medir as temperaturas e umidades do ar na entrada e na saída do secador e após cada uma das bandejas.



LEGENDA:

- | | |
|-------------------------------|------------------------|
| A. Controlador de temperatura | E. Compressor radial |
| B. Milivoltímetro | F. Rotâmetro |
| C. Câmara de secagem | G. Furos para sensores |
| D. Aquecedor | |

Figura 2. Esquema do sistema de secagem.

Sensores de temperatura e umidade relativa

Os sensores utilizados são do tipo SHT75, fabricado pela Sensorion. Podem ser empregados para medição de temperaturas na faixa de -40 a 120 °C, com precisão de ± 0,5 °C; para umidade relativa do ar estes sensores podem ser empregados na faixa de 0 a 100 %, com precisão de ± 2%, sendo que nas faixas de 0 a 10% e de 90 a 100% esta precisão diminui.

Experimentos de secagem: Para a realização dos experimentos de secagem foi utilizada a técnica de planejamento experimental. A análise fatorial completa com as três variáveis de entrada consideradas gerou $2^3 = 8$ experimentos. Uma boa estimativa dos erros experimentais é obtida com a realização de ensaios com replicatas no ponto central, que corresponde a valores médios entre os níveis inferiores e superiores das variáveis de entrada consideradas. Neste estudo foram realizados três experimentos no ponto

central, que corresponde a valores médios entre os níveis inferiores e superiores das variáveis de entrada consideradas. Neste estudo foram realizados três experimentos no ponto central, tendo um total de 11 experimentos. A faixa de temperatura e velocidade do ar de secagem e espessura da fruta foi escolhida com base nos dados obtidos por ARAGÃO (2005). Na Tabela 1 são mostradas as variáveis experimentais independentes. A matriz experimental com as três variáveis de entrada é mostrada na Tabela 2.

Tabela 1. Variáveis de entrada e seus respectivos níveis para o planejamento experimental da secagem convectiva do caju.

Variáveis	Unidades	Níveis		
		-1	0	+1
Temperatura do ar (T)	°C	60	70	80
Velocidade do ar (v)	ms ⁻¹	1,0	1,4	1,8
Espessura do leito (L)	cm	1	2	3

Tabela 2. Matriz experimental das variáveis de entrada.

Experimentos	Variáveis de entrada		
	T(°C)	v(ms ⁻¹)	L(cm)
1	80	1,8	3
2	60	1,8	3
3	80	1,0	3
4	60	1,0	3
5	80	1,8	1
6	60	1,8	1
7	80	1,0	1
8	60	1,0	1
9	70	1,4	2
10	70	1,4	2
11	57	1,4	2

Inicialmente o caju foi cortado em fatias com espessura igual a 1 cm, amostras foram retiradas para determinação do teor de umidade inicial. Em seguida as fatias de caju foram distribuídas nas bandejas acopladas a um suporte (Figura 3). Atingidas as condições operacionais de temperatura e velocidades do ar preestabelecidas, o suporte contendo as bandejas com as fatias de caju úmidas foi colocado na câmara de secagem e iniciado o processo. Em intervalos regulares de tempo, o suporte era retirado, e as bandejas pesadas individualmente e rapidamente recolocadas no secador. Por gravimetria a quantidade de água evaporada era quantificada e consequentemente obtido o teor de umidade da amostra.

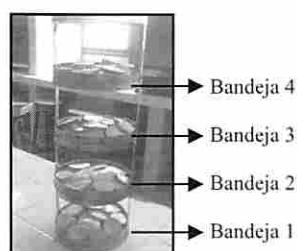


Figura 3. Suporte das bandejas com fatias de caju

Nos furos laterais existentes na câmara de secagem foram colocados os sensores para acompanhar a variação da temperatura e umidade relativa do ar após cada bandeja. Um sensor do mesmo tipo foi instalado próximo ao equipamento para acompanhar a variação de temperatura e umidade relativa ambiente. A cada 5 minutos os sensores registravam as temperaturas e umidades relativas no interior do secador e no ambiente e estes valores eram enviados através de uma placa de aquisição de dados para um terminal de computador.

Na entrada de ar do secador e na saída deste, ou seja, antes da primeira bandeja e após a última foram colocados dois termopares inseridos no centro da fatia de caju, para acompanhar a evolução da temperatura no interior da fatia nestas duas posições.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 11 experimentos realizados serão apresentados e discutidos apenas os resultados do experimento 1, que corresponde aos níveis superiores de cada variável estudada. O comportamento das curvas: umidade da fruta (U), temperatura do ar (T), umidade relativa do ar (UR), em cada bandeja, e temperatura da fruta (Θ), todas ao longo do tempo de secagem (t), são mostrados nas Figuras 4, 5, 6 e 7, respectivamente.

Na Figura 4 estão apresentadas as curvas de secagem do caju. Observa-se que a cinética de secagem na bandeja 1 é mais elevada em relação às demais. Para as condições operacionais do experimento 1, após 250 minutos praticamente não existe diferença entre as mesmas, ou seja, as fatias de caju em todas as bandejas atingiram o mesmo teor de umidade, bem próximo ao equilíbrio.

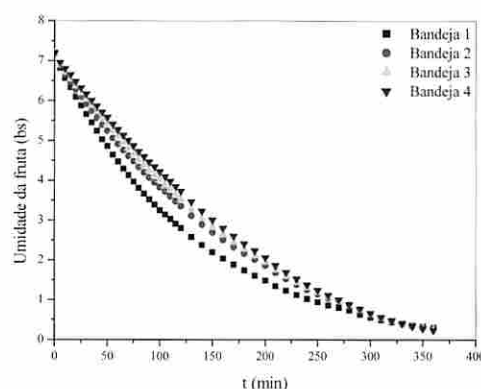


Figura 4. Curvas de secagem de fatias de caju. T= 80 °C, v=1,8 m.s⁻¹, L= 3 cm

A variação da temperatura do ar após cada uma das bandejas do secador é apresentada na Figura 5. Foi observado que a temperatura do ar entre as bandejas aumenta com o tempo, e em torno de 300 minutos praticamente não há mais diferença entre elas, tendendo a igualar-se a temperatura do ar de secagem.

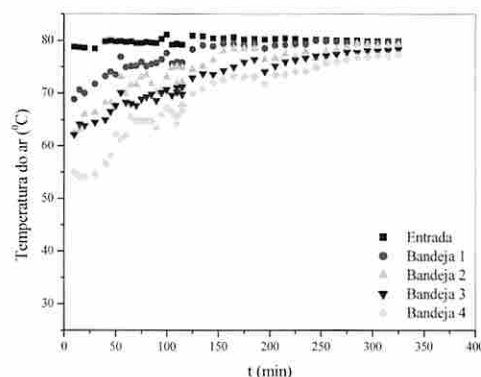


Figura 5. Variação da temperatura do ar ao longo das bandejas: T= 80 °C, v=1,8 m.s⁻¹, L= 3 cm

A variação da umidade relativa do ar após cada bandeja é apresentada na Figura 6. Foi observado um comportamento inverso ao da temperatura (Figura 5), ou seja, a umidade relativa do ar decresce entre as bandejas ao longo do tempo. Após 100 minutos de secagem a diferença entre as curvas começa a diminuir mais acentuadamente e após 300 minutos essa diferença praticamente não existe. A umidade atinge níveis baixos, em torno de 5%, permanecendo até o final do experimento.

Na Figura 7 é apresentada a evolução da temperatura da fruta na entrada e na saída do secador. Observa-se que a temperatura da fruta na entrada do secador aumenta com o tempo e tende a equilibrar-se com a temperatura do ar de secagem a partir dos 200 minutos. A temperatura da fruta na saída do secador é sempre inferior à temperatura na entrada e apresenta oscilações bem maiores, isto pode ser atribuído, além da influência da temperatura e umidade relativa das bandejas anteriores, à influência das condições ambientes, tendo em vista que na saída do secador, a fruta, que está na última bandeja, tem contato direto com o ar ambiente.

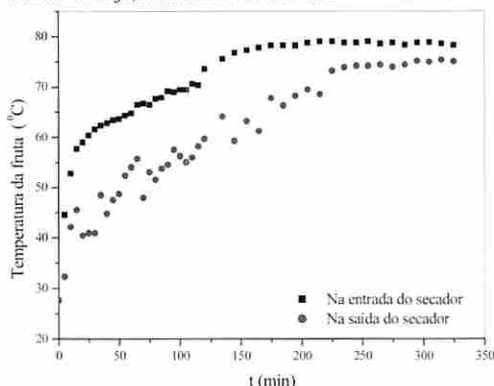


Figura 7. Evolução da temperatura no interior das fatias de caju para $T=80^{\circ}\text{C}$, $v=1,8\text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$, $L=1\text{ cm}$.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados, verificou-se que:

- Nas condições operacionais estudadas foi observado que na bandeja 1 a secagem é mais rápida, enquanto que as demais bandejas apresentam secagem mais lenta, não existindo diferenças entre elas.

- A temperatura do ar entre as bandejas aumenta com o tempo, e em torno de 300 minutos praticamente não há mais diferença entre elas, tendendo a igualar-se a temperatura do ar de secagem.
- A umidade relativa do ar decresce entre as bandejas ao longo do tempo. Após 100 minutos de secagem a diferença entre as curvas começa a diminuir mais acentuadamente e após 300 minutos essa diferença praticamente não existe. A umidade atinge níveis baixos, em torno de 5%, permanecendo até o final do experimento.
- Na faixa de tempo estudada, o tempo necessário para o equilíbrio térmico da fruta na entrada do secador é de aproximadamente 150 minutos, a fruta na saída do secador não alcançou o equilíbrio térmico.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), o apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrigueto, J. R., Kososki, A.R. Desenvolvimento e conquista da produção integrada de frutas no Brasil. In: Manual de Produção integrada de Caju. EMBRAPA, 2005.
- Aragão, R. F., Alsina, O. L. S., Silva, L. C. Estudo da cinética e evolução térmica durante a secagem de fatias de caju. Simpósio Brasileiro de Pós-colheita de Frutas Tropicais, 2005. CD rom.
- Instituto Brasileiro de Geografia e estatística. Disponível em <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 31 de maio de 2007.

EFFECTO ANTIMICROBIANO DE DISTINTAS VARIEDADES DE TÉ VERDE ARGENTINO EN SUERO DE QUESO LÍQUIDO

von Staszewski, Mariana; Jagus, Rosa Juana

Laboratorio de Microbiología Industrial: Tecnología de Alimentos, Dpto. de Ingeniería Química,
Facultad de Ingeniería, Universidad de Buenos Aires.

Pabellón de Industrias, Ciudad Universitaria, (1428) Buenos Aires, Argentina.

E-mail marianvon@yahoo.com.ar

Palabras clave: Procesamiento de alimentos, té verde, suero de queso, antimicrobiano natural

RESUMEN

El té verde ha mostrado resultados alentadores respecto a su actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis* en medios de cultivo. Sin embargo, no se ha encontrado actividad cuando se lo aplica en alimentos en las mismas condiciones. Por lo tanto, dada la complejidad de la matriz alimentaria, se requieren estudios adicionales para su utilización en sistemas reales.

El suero de queso puede ser estabilizado microbiológicamente y conservado para su uso como ingrediente de alimentos. Los objetivos de este trabajo fueron estudiar el efecto antimicrobiano de distintas variedades de té verde argentino y un té verde chino comercial frente a *Listeria innocua*, *Salmonella Typhimurium* y *Staphylococcus aureus* en suero de queso líquido durante el almacenamiento a 20°C.

La capacidad antimicrobiana del té verde es generalmente atribuida a los polifenoles presentes, en particular a las catequinas. El té verde chino comercial resultó ser el más pobre en polifenoles, seguido por la variedad argentina CH 112; mientras que las variedades CH 410 y CH 318 son las que mayor contenido de polifenoles mostraron en el ensayo de Folin-Ciocalteu. Estos valores se vieron correlacionados con la efectividad antimicrobiana de cada variedad. Además, los diferentes microorganismos mostraron distintas sensibilidades con cada variedad y concentración del extracto. *S. aureus* fue el microorganismo más sensible al tratamiento con té verde. Los extractos al 1% inhibieron completamente el desarrollo de esta bacteria, mientras que los extractos al 3% mostraron además una disminución en el número inicial de microorganismos. A su vez, *L. innocua* resultó ser más susceptible que *S. typhimurium*. El té verde es adecuado para inhibir el crecimiento de microorganismos contaminantes en suero de queso. La utilización de té verde como antimicrobiano es promisoría para la elaboración de alimentos saludables y seguros.

INTRODUCCIÓN

Numerosos compuestos químicos sintéticos son usualmente utilizados como antimicrobianos durante el procesamiento y almacenamiento de alimentos para eliminar microorganismos contaminantes y patógenos, muchos de los cuales han desarrollado resistencia a antibióticos. Recientemente, el interés y la preocupación de los consumidores se ha centrado en el uso de "antimicrobianos naturales" como alternativa al uso de los sintéticos debido a los potenciales riesgos de estos últimos sobre la salud (Si y col., 2006). Por otro lado, gran parte de la población ha demostrado un creciente interés por los alimentos funcionales, es decir alimentos con efectos benéficos para la salud o funciones biorreguladoras.

El té es la segunda bebida más consumida en el mundo, luego del agua. Estudios epidemiológicos han mostrado que el consumo regular de té verde está asociado con beneficios para la salud humana, como por ejemplo la prevención de varios tipos de cáncer y enfermedades cardiovasculares. Estos efectos protectores son generalmente atribuidos a los polifenoles presentes en el té, en particular a las catequinas (Scalbert y col., 2005). Paralelamente, el té ha mostrado resultados alentadores respecto a su actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis* entre otros (Hamilton-Miller y Shah, 2000; Kim y col., 2004; Cushnie y Lamb, 2005; Si y col., 2006). Sin embargo, a pesar de la creciente utilización de los extractos de

té en alimentos, la mayor parte de los experimentos reportados fueron realizados en medios de cultivo. Muy pocos estudios se han desarrollado directamente con matrices alimentarias, donde se sabe que pueden existir interacciones con los componentes de la misma, disminuyendo de esta manera la capacidad antimicrobiana de los extractos de té verde.

Listeria monocytogenes, *Salmonella* sv. Typhimurium y *Staphylococcus aureus* son patógenos y contaminantes de numerosos alimentos. Son reconocidos como peligros microbiológicos relacionados al procesamiento de la leche y productos lácteos, debido a sus capacidades para crecer en ambientes extremos como refrigeración, amplios rangos de pH y bajos valores de actividad de agua.

Listeria innocua, especie no patógena, puede ser utilizada como indicador biológico de *L. monocytogenes* debido a su respuesta similar frente a tratamientos físicos, químicos o térmicos. (Kamat y Nair, 1996).

El suero de queso, subproducto de la industria quesera, tiene como componentes principales proteínas, azúcares y sales. Debido a su alta demanda biológica de oxígeno, no puede ser eliminado sin tratar. Por consiguiente, es importante que la industria del queso tenga distintas opciones para conservarlo y utilizarlo como base de alimentos, con el fin adicional de no contaminar el medio ambiente.

Es posible obtener suero en polvo y otros derivados como lactosa y concentrados proteicos con la aplicación de un proceso de membrana, una concentración y un secado spray. Estos procesos implican una inversión considerable, siendo sólo aplicables a plantas que procesan más de 300.000 l/día de leche (Peters, 2005; Atra y col., 2006; Henning y col., 2006).

El líquido concentrado por ultrafiltración (producto intermedio) es un sustrato rico para el crecimiento de microorganismos. Si se lo estabiliza adecuadamente, puede ser utilizado directamente en la elaboración de alimentos en reemplazo de productos en polvo. Por lo tanto, resulta útil desarrollar métodos simples y económicos, que permitan estabilizar este líquido, para que pueda ser almacenado hasta su utilización manteniendo un estándar microbiológico y nutricional adecuado.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto antimicrobiano de distintas variedades de té verde argentino y un té verde chino comercial frente a *Listeria innocua*, *Salmonella Typhimurium* y *Staphylococcus aureus* en suero de queso líquido durante el almacenamiento a 20°C.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de los extractos de té verde

Se pesaron 1,0 g ó 3,0 g de hojas de té verde de las distintas variedades nacionales (EEA Cerro Azul-INTA, Argentina) ó del té verde comercial, se molieron en molinillo de café y se agregaron 99-97 ml de agua destilada caliente (95°C aproximadamente) para lograr extractos solubles en agua al 1% y 3% (P/V), respectivamente. Estas infusiones se mantuvieron en un baño térmico a 100°C durante 20 minutos. Luego se filtraron con algodón y se centrifugaron a 10000 rpm durante 20 minutos para eliminar el polvillo. Los extractos se esterilizaron en autoclave (120°C, 15min.) y se reservaron para la posterior preparación del suero de queso líquido.

Análisis microbiológico

Los microorganismos utilizados fueron *Listeria innocua* (CIP 8011, CCMA 29), *Salmonella typhimurium* (ATCC 13311) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P). Todos se cultivaron en caldo triptona de soja enriquecido con extracto de levadura

(TSYE). Una alícuota de los precultivos de 16 - 18 horas de incubación a 28°C fue transferida a caldos frescos de TSYE y los mismos fueron incubados hasta la densidad poblacional deseada. Alícuotas de 20ml de los cultivos inoculados fueron centrifugadas durante 40 minutos a 10.000 rpm y los pellet de células fueron resuspendidos en el mismo volumen de suero líquido con 8% de sólidos, preparado a partir de concentrado proteico de suero en polvo con 34% de proteínas (WPC34, provisto por Milkaut S.A), disolviendo con agua destilada ó con extracto de té verde. El pH fue ajustado con HCl 0,25N. Las muestras control y las tratadas con té verde fueron almacenadas a 20°C durante 4 días.

La efectividad del té verde fue evaluada mediante el recuento en placa de células viables. Las determinaciones fueron realizadas por duplicados.

Determinación del contenido de polifenoles totales

Se realizó la determinación del contenido de polifenoles totales en los distintos extractos mediante el método de Folin-Ciocalteau (Slinkard y Singleton, 1977).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las distintas variedades de té verde mostraron distintos contenidos de polifenoles totales expresados como equivalentes de ácido gálico (Figura 1). El té verde chino comercial resultó ser el más pobre en polifenoles, seguido por la variedad argentina CH 112; mientras que las variedades CH 410 y CH 318 son las que mayor contenido de polifenoles mostraron en el ensayo de Folin-Ciocalteau. Estos valores se vieron correlacionados con la efectividad antimicrobiana de cada variedad. Además, los diferentes microorganismos mostraron distintas sensibilidades con cada variedad y concentración del extracto durante el almacenamiento a 20°C (Figuras 2-4).

En el caso de *Salmonella typhimurium* se observó que los extractos al 1% no produjeron efectos inhibitorios del crecimiento a lo largo del almacenamiento, mostrando para todas las variedades un comportamiento similar al control (Figura 2a). Sin embargo, cuando se utilizaron los extractos al 3% se observaron distintas velocidades en el crecimiento de *S. typhimurium*, obteniéndose para las variedades CH 318 y CH 410 una fase lag de 24 horas aproximadamente y densidades máximas poblacionales de 3 y 4 órdenes inferiores al control (Figura 2b). La variedad CH 112 y el té verde comercial mostraron un efecto inhibitorio leve, con una tasa de crecimiento inferior al control pero llegando a niveles similares a éste al finalizar el almacenamiento.

Si y col. (2006) obtuvieron una inhibición para *S. typhimurium* del 58% utilizando un extracto comercial de té verde chino en una concentración de 500mg/l. A través de estudios con microscopía electrónica de barrido observaron que en presencia de té, las células aparecían formando cadenas o agregados, indicando que el tratamiento afecta la división celular. Dado que ninguno de los microorganismos evaluados pudo completar su división celular, sugieren que éste es el punto de ataque de los polifenoles del té.

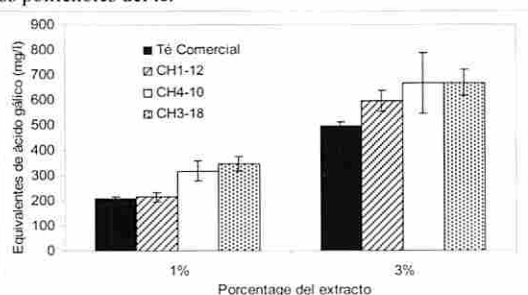


Figura 1. Contenido de polifenoles totales en los extractos de té verde.

Cuando analizamos la respuesta de *L. innocua* frente a las distintas variedades de los extractos al 1%, observamos nuevamente que las variedades con mayor contenido de polifenoles son las que mayor efecto antimicrobiano presentan (Figura 3a). En este caso, también se obtuvieron tasas de crecimiento disminuidas para todas las variedades.

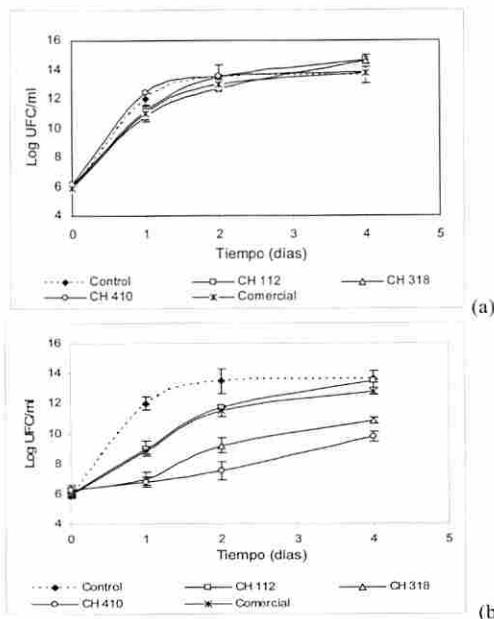
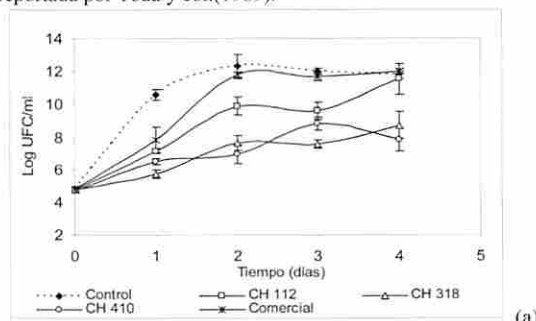


Figura 2: Efectividad de las distintas variedades de té verde sobre *Salmonella typhimurium* en suero de queso líquido. (a) Extractos al 1% y (b) extractos al 3%. Las barras de error indican la desviación estándar.

Sin embargo, sólo las variedades CH 318 y CH410 presentaron diferencias significativas con el control al finalizar el almacenamiento. Cuando el porcentaje del extracto se incrementa al 3%, la inhibición es completa para todas las variedades evaluadas, mostrando *L. innocua* un comportamiento bacteriostático (Figura 3b). Comparando con *S. typhimurium*, *L. innocua* resulta ser más susceptible al tratamiento con té verde, mientras que *S. aureus* resultó ser el más sensible. En este último caso, los extractos al 1% inhibieron completamente el desarrollo de esta bacteria, mientras que los extractos al 3% mostraron además una disminución en el número inicial de microorganismos luego de 4 días de almacenamiento (Figura 4 a y b). En este último caso, se observó también que las variedades CH 318 y CH 410 fueron las que mayor efecto bactericida ejercieron.

Stapleton y col. (2004) también notaron para este microorganismo la presencia de agregados multicelulares con paredes celulares engrosadas y septos aberrantes, cuando se trataron suspensiones de *Staphylococcus aureus* con (-)-Epicatequina galato en caldo Mueller-Hinton.

Las respuestas obtenidas para los distintos microorganismos son similares a las mostradas por otros autores (Si y col., 2006; Kim y col., 2004), quienes observaron que *S. aureus* es el más sensible al tratamiento con té verde, seguido por *L. monocytogenes*, siendo los más resistentes los gram(-) como *S. typhimurium* y *E. coli* 0157:H7. Esta diferencia de sensibilidad entre microorganismos gram(+) y gram(-) también fue reportada por Toda y col.(1989).



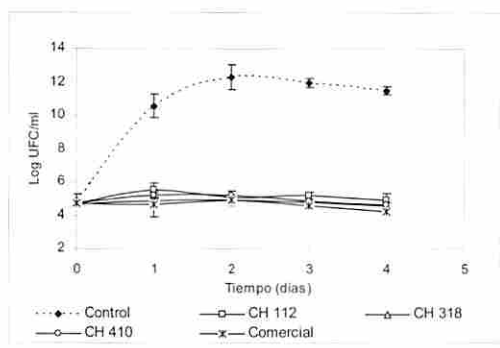
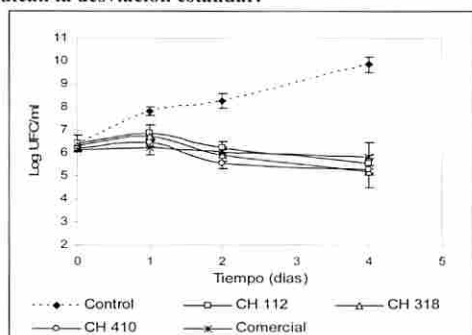
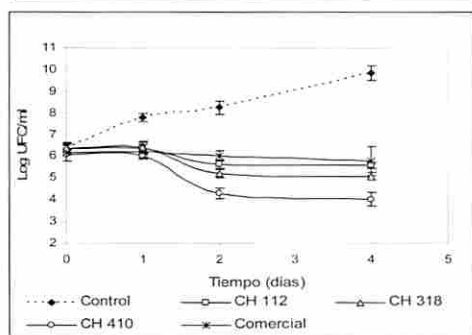


Figura 3: Efectividad de las distintas variedades de té verde sobre *Listeria innocua* en suero de queso líquido. (a) Extractos al 1% y (b) extractos al 3%. Las barras de error indican la desviación estándar.



(a)



(b)

Figura 4: Efectividad de las distintas variedades de té verde sobre *Staphylococcus aureus* en suero de queso líquido. (a) Extractos al 1% y (b) extractos al 3%. Las barras de error indican la desviación estándar.

CONCLUSIONES

El té verde es adecuado para inhibir el crecimiento de microorganismos contaminantes en suero de queso. Sin embargo, el potencial uso de polifenoles en alimentos lácteos, debe respaldarse con estudios sensoriales y organolépticos del alimento tratado. O'Connell y Fox (2001) alertan acerca de la utilización de altas concentraciones de polifenoles en la leche y otros productos lácteos, dado que los mismos presentan una alta astringencia.

Las variedades de té verde argentino resultaron más efectivas que el té verde comercial, coincidiendo con el mayor contenido de polifenoles.

La utilización de té verde como antimicrobiano es promisoría para la elaboración de alimentos saludables y seguros.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo económico de la Universidad de Buenos Aires y del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la República Argentina; y al Sr. Sergio D. Prat Kricun por la donación de las muestras de té verde.

REFERENCIAS

- Atra, R., Vatai, G., Bekassy-Molnar, E., Balint, A. 2006. Investigation of ultra- and nanofiltration for utilization of whey protein and lactose. *J. Food Engineering*, 67: 325-332.
- Cushnie T.P.T., Lamb, A.J. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 26: 343-356.
- Deegan, L., Cotter, P.D., Colin, H., Ross, P. (2006). Bacteriocins: Biological tools for bio-preservation and shelf-life extension. *Int. Dairy J.*, 16: 1058-1071.
- Ferruzi, M.G., Green, R.J. 2006. Analysis of catechins from milk-tea beverages by enzyme assisted extraction followed by high performance liquid chromatography. *Food Chem.*, 99: 484-491.
- Hamilton-Miller, J.M.T., Shah, S. 2000. Activity of the tea component epicatechin gallate and analogues against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Antimicrob. Chemoterapy*, 46: 847-863.
- He, Q., Shi, B., Yao, K. 2006. Interactions of gallotannins with proteins, amino acids, phospholipids and sugars. *Food Chem.*, 95: 1178-1182.
- Henning, D.R., Baer, R.J., Hassan, A.N., Dave, R. 2006. Major Advances in Concentrated and Dry Milk Products, Cheese, and Milk Fat-Based Spreads. *J. Dairy Sci.*, 89: 1179-1188.
- Kamat, A.S., Nair, P.M. 1996. Identification of *Listeria innocua* as a biological indicator for inactivation of *Listeria monocytogenes* by some meat processing treatments. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 29: 714-720.
- Kim S., Ruengwilysup, C., Fung, D. Y. C. 2004. Antibacterial effect of water-soluble tea extracts on foodborne pathogens in laboratory medium and in a food model. *J. Food Prot.*, 67 (11). 2608-2612.
- Peters, R.H. 2005. Economic aspects of cheese making as influenced by whey processing options. *Int. Dairy J.*, 15: 537-545.
- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C. 2005. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews Food Sci. Nutrition*, 45: 287-306.
- Si, W., Gong, J., Tsao, R., Kalab, M., Yang, R., Yin, Y. 2006. Bioassay-guided purification and identification of antimicrobial components in chinese green tea extract. *J. Chromatography A*, 1125: 204-210.
- Slinkar, K., Singleton, V.L. 1977. Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. *American J. Enology Viticulture*, 28: 49-55.
- Stapleton, P.D., Shah, S., Hamilton-Miller, J.M.T., Hara, Y., Nagaoka, Y., Kumagai, A., Uesato, S., Taylor, P.W. 2004. Anti-*Staphylococcus aureus* activity and oxacillin resistance modulating capacity of 3-O-acyl-catechins. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 24: 374-380.
- Toda, M., Okubo, S., Hiyoshi, R., Shimamura, T. 1989. The bactericidal activity of tea and coffee. *Lett. Appl. Microbiol.* 8: 123-125.

CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y RENDIMIENTO DEL QUESILLO (QUESO DE PASTA HILADA) ELABORADO CON LECHE DE BÚFALA

Arteaga, Margarita R.; Simanca, Mónica M.; Soto, Erwing R.; Puente, Jesús L.

UNIVERSIDAD DE CORDOBA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS

Carrera 6ª # 76-103. E. mail. marteaga@sinu.unicordoba.edu.co

MONTERIA-COLOMBIA

Palabras clave: Procesamiento de alimentos, Leche de búfala, quesillo, queso hilado, rendimiento

RESUMEN

Esta investigación se llevó a cabo con el fin de evaluar las características fisicoquímicas y determinar el rendimiento del quesillo (queso de pasta hilada) elaborado con leche de búfala. Se realizó un experimento factorial bajo un diseño estadístico completamente al azar, donde las variables independientes fueron: dos métodos de acidificación del suero dulce (espontánea e inducida) y tres (3) niveles de dosis finales de acidez de la mezcla suero ácido-leche fresca (0.43, 0.45 y 0.47% de ácido láctico(AL)), para un total de seis tratamientos. Se evaluaron las características fisicoquímicas de la leche de búfala utilizada como materia prima (grasa, proteína, ceniza, lactosa, sólidos totales, Acidez y pH) y se determinó antibiótico; para el producto final se evaluó el porcentaje de proteína, grasa, humedad, ceniza, cloruro, acidez y el pH. Para ambos casos se utilizaron métodos referenciados por la A.O.A.C y la FIL-IDF. Se calculó el rendimiento real y teórico, para este último se utilizó la fórmula referenciada por Jensen (1971) citado por Brito *et al.* (2002). De acuerdo con los resultados obtenidos, los diferentes niveles de acidez de la mezcla leche fresca y suero ácido y el tipo de acidificación del suero dulce, no afectaron el contenido de grasa, cenizas, cloruros y acidez de los quesos. Para el contenido de proteína, humedad y pH, sí se presentan diferencias estadísticamente significativas al igual que para el rendimiento. El contenido de grasa de los quesillos es menor que el obtenido con leche de vaca, pero su rendimiento es mayor. Se presentó mayor contenido de proteína y humedad en el quesillo cuyo tratamiento fue: acidez de la mezcla de leche y suero ácido de 0.47% de ácido láctico con el método espontáneo para la acidificación de leche, por lo que se obtuvo mayor rendimiento en comparación con los otros tratamientos.

INTRODUCCION

En Colombia existen grandes extensiones de tierras inundables que no son aprovechadas para la ganadería tradicional ya que le causan serios problemas a los ganados que allí pastan, lo cual genera grandes pérdidas económicas para los propietarios. Como una alternativa para utilizar estas tierras se ha contemplado la cría del búfalo de agua (*Bubalus bubalis*), ya que esta es una especie con gran potencial para la obtención de carne y leche de primera calidad. Actualmente Colombia cuenta con un inventario superior a 100.000 búfalos, esparcidos por todo el territorio nacional. En el departamento de Córdoba, son muchos los que han incursionado en la adquisición de ejemplares de este género ya que ven en el búfalo una alternativa económica muy tentativa y atractiva, debido a los buenos rendimientos en carne y leche, con producciones que superan los 4000 litros de leche en una lactancia (Sanint, 2006). La transformación de la leche de búfala ofrece gran ventaja en comparación con la leche de vaca dada su composición físico-química (mayor contenido de sólidos totales, alrededor de 17%) ofreciendo mejores rendimientos y mejores características nutricionales (ACB, 2005). A partir de la leche de búfala se pueden obtener todos los productos que se obtienen con otras leches, pero por presentar diferencias apreciables en su composición, pueden mostrar una aptitud variable frente a los procesos.

Dentro de las posibles transformaciones de la leche de búfala se encuentra el queso, existe una gran variedad de quesos, se diferencian entre ellos tanto por el tipo de materia prima

utilizada (leche de vaca, búfala, cabra, etc.) como por los métodos empleados en su elaboración.

En Colombia se produce el quesillo, que es un queso fresco, no madurado, de pasta hilada, con un sabor moderadamente ácido, elaborado con leche de vaca; su coagulación es tipo ácida coadyudada con una pequeña cantidad de enzimas (Mixta). Tiene una consistencia semiblanda y apariencia de capas, su rendimiento con leche de vaca es alrededor de 10 a 11%. (Mejía y Sepúlveda, 1999; Bermúdez y López (2003). Según Bermúdez y López (2003). La acidez del suero permite una desmineralización de la caseína, lo cual le da a la cuajada una consistencia elástica, que le confiere características de formar hilos siendo esta importante en todos los quesos de pasta hilada como el Mozzarella, Pera, Quesillo huilense entre otros. Brito (2000) afirma que una de los principales efectos del ácido láctico contenido en el suero y formado durante la elaboración de los quesos de pasta hilada, es producir el paracaseinato monocálcico que da plasticidad a la cuajada, le que es necesario para que se lleven a cabo modificaciones en las características sensoriales de cuerpo o consistencia de éstos. Este proceso se realiza al reaccionar el ácido láctico con el paracaseinato bicálcico, removiendo poco a poco el fosfato de calcio coloidal de las submicelas de caseína y transformando la cuajada inicialmente friable, degranable y discontinua en una masa elástica, continua y flexible. Cabe destacar, que una de las ventajas de la utilización de la leche de búfala en comparación con la de vaca es el alto rendimiento que se espera obtener en sus productos, principalmente en el queso debido al alto proteínas que esta contiene.

El objetivo de este trabajo fue evaluar las características fisicoquímicas y el rendimiento del quesillo (queso de pasta hilada) elaborado con leche de búfala.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

La leche de búfala utilizada como materia prima para la obtención del quesillo se obtuvo a partir de un ordeño manual en una finca bufalera ubicada en la Doctrina municipio de Loricá, departamento de Córdoba -Colombia

Métodos

Adecuación y caracterización de la materia prima: el transporte de la leche a la procesadora (Bufalact), se realizó a través de cantinas de aluminio de 20 litros previamente lavadas y desinfectadas. La toma de las muestra de leche, se llevará a cabo conforme a lo establecidos por FIL-IDF 50C:1995 en "Muestreo de leche y productos líquidos lácteos". Para la caracterización y control de la materia prima se realizaron los análisis fisicoquímicos por duplicado, utilizando el equipo electrónico BIOLAC 60, de acuerdo al método FIL-IDF 141 B: 1996, obteniendo así el porcentaje (p/v) de materia grasa, proteína, cenizas, lactosa, sólidos totales y la acidez. Además se realizó una prueba de antibióticos utilizando DELVOTEST (SP-NT de DSM, Test Colorimétrico).

Diseño experimental. Se llevó a cabo un experimento factorial bajo un diseño estadístico completamente al azar, donde la variable independiente fueron: dos métodos de acidificación del suero dulce (espontánea e inducida) y tres (3) niveles de dosis finales de acidez de la mezcla suero ácido-leche fresca, para un total de seis tratamientos. A cada tratamiento se le realizaron cuatro (4) repeticiones obteniendo veinte y cuatro (24) muestras de producto terminado, las cuales se analizaron por duplicado, para un total de 48

muestras. La acidificación espontánea se obtuvo al dejar el suero dulce obtenido del proceso de queso costeño (queso no madurado cuya coagulación es tipo enzimática) en reposo durante 24 – 48 horas a temperaturas entre los 28 y 32°C, tiempo en el cual la acidez alcanzó niveles entre el 1.2 y 1.4% de ácido láctico. Para la acidificación inducida se utilizó ácido láctico como medio acidificante para llevar el suero dulce a una acidez entre 1.2 y 1.6% de ácido láctico. Los tratamientos realizados son: T1, T2 y T3, fueron estandarizados respecto a la acidez de la mezcla suero ácido-leche en 0.43, 0.45, 0.47%AL respectivamente, además se realizó la acidificación espontánea del suero a utilizar para la mezcla con la leche y T4, T5 y T6 son los tratamiento en donde se realizó un acidificación inducida del suero utilizando ácido láctico, y la acidez de la mezcla corresponde a 0.43, 0.45, 0.47 %AL respectivamente.

Elaboración del quesoillo. Para la obtención del quesoillo se tomo como referencia Mejía y Sepúlveda (1999), con algunas modificaciones realizadas durante la investigación. A continuación se detalla cada etapa:

Selección de la materia prima: la acidez de la leche de búfala no superó el 0.19% de ácido láctico, la acidez del suero (ya sea acidificado espontáneamente o inducido) se manejó según el tratamiento. Tanto la leche como el suero se filtraron.

Estandarización de la mezcla: la mezcla de suero ácido y leche fresca se estandarizó para obtener una acidez entre 0.40 y 0.50% de ácido láctico, utilizando balance de masa se calcularon las cantidades de suero y leche.

Coagulación y tratamiento de la cuajada: la cantidad de cuajo adicionada es la mitad de lo que se necesita para una coagulación enzimática, este se adicionó antes del mezclado del suero y leche. Se dejó en reposo (10-20 minutos) y se agita lentamente a 32°C, se eliminó casi la totalidad del suero y la cuajada se cortó en lonjas de 10 cm. éstas se voltearon permanentemente hasta alcanzar un pH entre 5.0- 5.3.

Hilado y salado: la cuajada acidificada se sometió al proceso de hilado en una marmita a una temperatura entre 72 -75°C hasta que se obtuvo una masa elástica, brillante y homogénea. Durante el hilado se le adicionó 1.5% (p/p) de sal.

Moldeado, enfriamiento y almacenamiento: la masa se moldeó a temperatura ambiente durante 12 horas realizando un volteo en la mitad del tiempo. Después del moldeo se almacenó a temperaturas entre 4 a 6°C

Métodos de análisis del producto terminado.

Evaluación fisicoquímica del quesoillo. Al producto final se le determinó por duplicado el contenido de humedad, cenizas, materia grasa, proteína bruta, pH, acidez y cloruros utilizando métodos referencias y aprobados por la A.O.A.C.

Rendimiento teórico del quesoillo. El rendimiento práctico se calculó con base en los Kg. de queso obtenidos de 100 Kg. de leche. El rendimiento teórico fue estimado con base en la fórmula de Jensen (1971) citado por Brito *et al.* (2002), suponiendo que el comportamiento de transferencia de componentes de la leche de búfala es igual al de la leche de vaca. La fórmula se presenta a continuación:

$$R = \frac{0,9 \times M + 0,7 \times P + 0,35 \times C + 0,04 \times L}{100 - (H_Q + S_Q)} \times 100$$

En donde,

R: Rendimiento (Kg. de queso/100 Kg. de leche); M: Materia grasa de la leche (g/100 g); P: Contenido de proteína de la leche (g/100 g); C: Ceniza de la leche (g/100 g); L: Lactosa de la leche (g/100 g); H_Q: Humedad del queso (g/100 g); S_Q: Contenido de sal del queso (g / 100 g)

Análisis estadístico de datos: se llevó a cabo un análisis de varianza bajo el modelo factorial con un diseño completamente al azar. En las variables donde no se encontró interacción se aplicó pruebas de Duncan. Para cada variable se llevó a cabo las pruebas de validación del modelo propuesto (Normalidad, Homogeneidad de Varianza e Independencia). Todos los análisis se elaboraron con el software S.A.S. versión 8.0 y Microsoft Excel, con ilustración de gráfico y tablas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización fisicoquímica de la leche de Búfala: en la tabla 1, se observa los valores obtenidos en la caracterización de la materia prima por cada tratamiento realizado.

Tabla 1. Valores promedio de las características fisicoquímicas de la leche.

TTO	Grasa (%)	Proteína (%)	Sólidos totales (%)	Ceniza (%)	Lactosa (%)	Acidez (% AL)
1	6.66	4.20	15.48	0.82	5.05	0.17
2	6.06	3.85	14.29	0.80	5.23	0.19
3	6.34	4.09	14.26	0.80	5.11	0.17
4	6.16	3.76	14.84	0.79	5.34	0.18
5	5.98	4.02	16.44	0.79	5.07	0.17
6	5.71	3.95	15.48	0.79	5.15	0.17

El contenido de proteínas de la leche de búfala analizada, concuerdan con lo reportado por Paúl y Southgate. (1978), citados por Tamime y Robinsón. (1991) y por Campanile, (2006), que encontraron un valor de 4.2%. Según McDowell, (1972), el porcentaje de grasa de la leche de búfala es 7.46%, estudios mas recientes realizados por Campanile, (2006), reportan un 8.3% en promedio y UNAGA, (2006), obtuvo un promedio de 4.4% para este tipo de leche en Colombia. Para el contenido de sólidos totales (ST) Hurtado-Lugo *et al.* (2005), reporta un contenido de ST entre 16.17% y 17.66%, valores similares fueron reportados por Capdevilla *et al.* (2001). Los porcentajes tanto de grasa como de ST de estos autores no coinciden con los encontrados en el estudio, se debe tener en cuenta que el contenido de grasa es uno de los componentes que más variaciones presenta principalmente por efecto genético, fisiológico y nutricional (Sutton, 1989). La variación en los valores de grasa, se encuentran altamente influenciados por el periodo seco (Palmquist *et al.*, 1993; Capdevilla *et al.*, 2001; Jensen, 2002). En cuanto al contenido de ST, una disminución en algunos de los componentes de la leche influye sobre el contenido total de sólidos, tanto el estado de lactación y la época del año juegan un papel importante en la concentración de sólidos totales presentes en la leche (Hurtado-Lugo *et al.* 2005). La acidez de la leche osciló entre 0.16% y 0.19% ácido láctico, Hurtado-Lugo *et al.*, (2005) reporta un rango de acidez entre 0.153 a 0.179 % ácido láctico. Los valores de acidez titulable varía de acuerdo al grupo genético (Faria *et al.*, 2002), el hato de búfalos de donde se extrajo la materia prima está compuesto por una diversidad de razas incluyendo Murrah, Jafarabadi, Mediterranea y Nili Rabi, por consecuencia las diferencias en la composición química de las leches como la cantidad de proteína, se refleja en la variación de la acidez. El contenido promedio de lactosa y de cloruros encontrado en la leche analizada fue de 5.16% y 0.8% respectivamente, siendo mayores a los reportados por Patiño y Guanziroli (2005) cuyos valores de lactosa y ceniza son 4.55 y 0.78% respectivamente. Las características fisicoquímicas de la leche de búfala analizada, presentaron variaciones asociadas a diferentes factores como: periodo de lactación, condiciones ambientales, dieta alimenticia y características del forraje entre otros. Al respecto Hurtado-Lugo *et al.* (2005) atribuyen esta variación a los cambios nutricionales y de manejo durante el año, además de las estacionalidad de los partos y sugieren que se debe prestar mayor atención al manejo en el ordeño. El 100% de las muestras de leche analizadas resultaron negativas al diagnóstico de antibióticos.

Evaluación fisicoquímica del quesoillo: los diferentes niveles de acidez de la mezcla leche fresca y suero ácido y el tipo de acidificación del suero dulce, no afectaron el contenido de grasa, cenizas, cloruros y acidez (Tabla 2) entre los tratamientos por lo que no existe diferencias estadísticamente significativa con un nivel de confianza del 95% entre los seis tratamientos.

Tabla 2. Valores promedio de las características fisicoquímicas del queso sin diferencias estadísticas

TTO	Grasa (%)	Ceniza (%)	Cloruro (%)	Acidez (% AL)
1	14.83	4.37	0.60	0.562
2	15.81	4.13	0.60	0.575
3	18.56	3.99	0.70	0.575
4	15.20	4.29	0.60	0.537
5	15.25	4.13	0.70	0.566
6	18.50	3.92	0.70	0.575

El contenido de grasa promedio encontrado en el queso de leche de búfala es 16.3%, Espinal *et al.* (1984), reporta que el contenido de grasa promedio del queso elaborado con leche de vaca es 25.5%, mientras que Jaramillo *et al.* (1991), dice que es de 25%. El contenido de grasa del queso con leche de búfala tiene 8.6% menos grasa en comparación con el de leche de vaca, esto puede atribuirse al tamaño de los glóbulos de grasa, puesto que los glóbulos grasos de la leche de búfala son de mayor tamaño que los de leche de vaca. Según Jaramillo *et al.* (1991), los glóbulos que más se retienen son los de tamaño medio seguido de los de diámetro reducido, y los de menor rendimiento queso son los glóbulos de mayor tamaño. Esto es debido a que los glóbulos de mayor tamaño flotan en la superficie, no incorporándose a la cuajada y pasan al suero.

En la tabla 3, se presenta los valores obtenidos en las características fisicoquímicas que presentaron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$).

Tabla 3. Valores promedio de las características fisicoquímicas del queso con diferencias significativas

TTO	Proteína (%)	Humedad (%)	pH
1	33.60 c	45.22 a	5.98 a
2	33.56 c	45.40 a	5.92 a
3	37.25 a	45.50 a	5.38 b
4	32.23 c	41.22 c	6.18 a
5	31.90 c	41.32 c	5.91 a
6	34.71 b	45.28 b	5.41 b

En la tabla 3, se aprecia que el mayor contenido de humedad lo obtuvieron los tratamientos con el método espontáneo con un promedio de 45.4%, conformando un grupo homogéneo entre ellos ($P > 0.05$), o sea que los distintos niveles de acidez no afectaron el contenido de humedad del queso con este método, lo anterior no concuerda con lo expuesto por Weber (1990), quien afirma que en una cuajada acidificada, las fuerzas de contracción que ejercen una presión sobre las paredes que retienen el lactosuero y la permeabilidad disminuyen con la acidificación, mientras que la permeabilidad aumenta, hasta que el estado micelar es destruido. Como consecuencia del aumento de la permeabilidad se esperaría un desuerado más drástico y por lo tanto una disminución en el contenido de humedad del producto. El hecho de que el queso obtenido con los tratamientos del método espontáneo presente mayor contenido de humedad se puede atribuir a que con estos tratamientos se presentaron altos contenidos de proteína y éstas juegan un papel importante en la retención de humedad del queso. Cunningham (2000), afirma que la proteína presente en el queso es la que retiene prácticamente toda la humedad del queso.

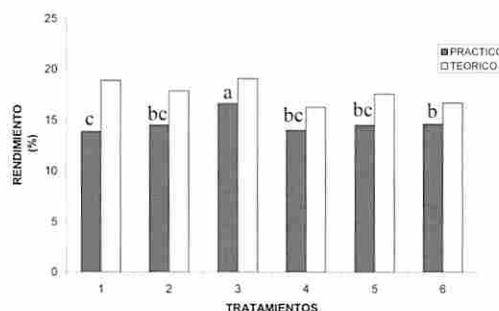
El mayor contenido de proteína lo presentó el tratamiento 3 (0.47%AL, método inducido). La prueba de separación de medias de Duncan indica que los tratamientos correspondientes al menor nivel de acidez de la mezcla (Tratamientos 1, 2, 4 y 5) presentaron menor contenido de proteína. En la práctica, se puede encontrar que el contenido de proteína promedio del queso elaborado con leche de vaca presenta un porcentaje del 20% - 20.2% (Jaramillo *et al.* 1991). El queso con leche de búfala presenta una diferencia por encima de 17.2% de proteína, estas diferencias se pueden atribuir a la composición fisicoquímica de la leche, pues el

componente proteína de la leche tiene una gran influencia sobre el contenido de proteína del queso.

Los diferentes niveles de acidez afectaron el pH pero no así a la acidez final del producto. Los valores más bajos de pH se presentaron en los quesillos que se obtuvieron con los tratamientos de mayor nivel de acidez en la mezcla. Jaramillo *et al.* (1991), reportan valores similares para esta dos variables en el queso; pH: 5.5 y acidez: 0.75% de ácido láctico. Los tratamientos 6 y 3 presentan el pH más bajo y es precisamente cercano al pH de quesos tales como Cheddar, Chihuahua, queso mexicano similar al Monterey Jack estadounidense, Mozzarella y Oaxaca queso mexicano de la familia de los quesos de pasta hilada con un pH aproximadamente de 5.3 (Cunningham, 2000). Se puede obtener un queso con leche de búfala, con características de pH y acidez parecidas a las de otros tipos de queso de este mismo tipo.

Rendimiento del queso. El análisis de varianza para esta variable presenta diferencias estadísticas altamente significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos. La prueba de separación de medias de Duncan mostró que el nivel de acidez más alto con el método espontáneo, registró el mayor rendimiento 16.6% (Figura 1), equivalentes a 16.6 Kg de queso por 100 litros de leche, este rendimiento supera al obtenido con leche de vaca en aproximadamente un 5%. Según Jaramillo *et al.* (1999), en promedio se obtienen entre el 10 y 12% de rendimiento en queso con leche de vaca

El rendimiento práctico en comparación al rendimiento teórico, calculado con la ecuación de Jensen (1971) citado por Brito *et al.* (2002), presenta discrepancia en todos los tratamientos. Esto posiblemente se debe a parámetros relacionados directamente con el proceso, como la formación inevitable de finos (grumos pequeños) durante el cuajado, la pérdida de grasa y sólidos totales al momento del corte de la cuajada y la pérdida de humedad en el proceso de hilado.



a,b,c: Letras iguales no difieren según la prueba de Duncan al 5%.

Figura 1. Rendimiento del queso obtenido con leche de búfala.

CONCLUSIONES

El mejor queso obtenido fue el del tratamiento que presenta un nivel de acidez final en la mezcla leche fresca y suero ácido para la elaboración del queso con leche de búfala de 47% de ácido láctico utilizando el método espontáneo y es el de mejor rendimiento.

Los porcentajes de proteína encontrados en el queso obtenido con 0.47% de acidez y método espontáneo, son más altos que los obtenidos con leche de vaca, superándolos en un 17% aproximadamente y el contenido de grasa encontrado en el producto final es 8.6% menor en comparación al mismo.

Los porcentajes de humedad variaron de un método a otro encontrándose la mejor retención de humedad con los tratamientos del método espontáneo.

El queso con leche de búfala presenta un rendimiento en un 5% mayor que el de leche de vaca.

BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIA

-ACB (Asociación Colombiana de criaderos de Búfalos). 2005. Las principales razas de búfalos en Colombia. Pág. 6, 15,21,28. www.asobufalos.org.

- Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 15 th edition; vol. 2. arlington, virginia: edited by kenneth helkrich. 1990
- Bermúdez, Esperanza N. y LOPEZ TORRES, Janeth. 2003. Guía técnica para la elaboración de productos lácteos. Litoenzas, Bogota., P 109, 118.
- Brito C. Queso Mozzarella. Documento Tecnología de lácteos, Magister en Ciencias y Tecnología de la leche. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Austral de Chile. 2000., 10 p.
- Brito, C; Niklitschek, L; Molina, L. H. y Molina, I (2002) Evaluation of mathematical equations to predict the theoretical yield of Chilean Gouda cheese. *International Journal of Dairy Technology* 55 (1), 32-39.
- Campanile, Giuseppe. 2006. Nutrition and milk production in dairy búfalo. En: III simposio búfalos de las americas y 2 simposio de búfalos de Europa y las Américas.. Medellín – Colombia.
- Capdevilla J, Zaldivar V, Ponce P y Martínez. 2001 [CD-Room] Physical-chemical characterization of búfalo milk mixtures from Cuba: The effects of month and season. In: VI World Búfalo Congress pp 384-391.
- Cunningham, Arturo Enrique. 2000. Optimización del rendimiento y aseguramiento de inocuidad en la industria de la quesería. Organización de los Estados Americanos OEA, México, p 10-55.
- Faria, M; Tonhati H; Cerón-Muñoz M; Duarte J. y Vasconellos. 2002. Características físico-químicas do leite de Búfalas ao longo da lactación. *Revista do instituto de laticínios Cândido Tostes*, 57 (324) 3-7.
- Hurtado, L; Cerón-Muñoz, Lopera, M; Bernal, A; Cifuentes, T. 2005. Determinación de parámetros físico-químicos de leche Bufalina en un sistema de producción orgánica. Grupo de Investigación en Ciencias Agrarias, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.
- IDF (Internacional Dairy Federation). 1995. Milk and milk products. Methods of sampling Standard-norme. IDF-FIL 50: int. Dairy fed., Brussels, Belgium.
- IDF. (Internacional Dairy Federation) 1996. Whole milk: Determination of milk fat, protein and lactose content-guide for the operation of mid-infra-red instruments. IDF Standard 41B. International Dairy Federation, Brussels, Belgium.
- Jaramillo, M; Mejía, L y Sepúlveda, J. 1991. Quesos fresco y de pasta hilada. Facultad de ciencias agrícolas. Departamento de ingeniería agrícola y de alimentos. Universidad nacional de Colombia.
- Jensen, R. G. 2002. Invited review: The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *Journal of Dairy Science* 85:295-350.
- Mejía, L. y Sepúlveda U. 1999. Tecnología de los Quesos Procesados y Madurados. Universidad nacional de Colombia, Medellín., p 4, 6, 29, 30, 34, 35.
- Patiño, e. y Guanziroli, S. 2005. Composición de leche de búfala (*Bubalus bubalis*) de raza Jafarabadi en Corrientes Argentina.
- Sanint, L. 2006. Pasado presente y futuro del Búfalo en Colombia. III Simposio búfalo de las americas. Medellín-Colombia.
- Sutton, J. 1989. Altering milk composition by feeding. *Journal of Dairy Science*. 72:2801-2805.
- Tamime, A. y Robinson, R. 1991. Yogurt Ciencia Y Tecnología. Acribia; Zaragoza España, p 7, 9,10.
- Weber, F. 1990. El desuerado del coagulo, En: Eck André. (Ed.). El queso. Ediciones omega, Barcelona, p 13-14.
- UNAGA. 2005. Unión Nacional de asociaciones Ganaderas colombianas <http://www.elchao.com.htm> - Fecha de consulta: Septiembre de 2005.

EVALUACIÓN DEL USO DE TECNOLOGÍA DE BARRERAS PARA LA DESHIDRATACIÓN DE FRUTAS DE CLIMA TEMPLADO Y TROPICAL

Herrera, Paulina; Acuña, Oswaldo
 ESCUELA POLITECNICA NACIONAL
 DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA
 Pasaje Andalucía E 12A y Veintimilla
 Casilla 17-01-2759. E. mail. rpaulinaherrera@yahoo.com
 QUITO - ECUADOR

Palabras clave: procesamiento de alimentos, deshidratación, orito, uvilla, piña, manzana

RESUMEN

El presente trabajo se evaluó el uso combinado de la deshidratación osmótica y secado con aire caliente para la deshidratación de frutas. El trabajo se basó en la idea de producir una mezcla de frutas deshidratadas de piña (*Ananas comosus*), orito (*Musa acuminata*), uvilla (*Physalis peruviana*) y manzana (*Pyrus malus*).

Primero se realizó una caracterización físico-química de las frutas, y se levantó experimentalmente a nivel de laboratorio, información de los parámetros de procesamiento para la deshidratación de las frutas indicadas. Se obtuvieron las curvas de secado y de balance de materia del proceso.

Los resultados de las pruebas experimentales indican que el rendimiento de producción de fruta deshidratada varía entre 10 al 20% y que el uso de un jarabe de 50 °Brix a temperatura ambiente minimiza los cambios de sabor y textura de la fruta. Las humedades de los productos secos obtenidos fueron inferiores al 20% lo que garantiza su conservación. Se encontró además que a excepción de la uvilla las frutas tienen una aceptación alta en los posibles consumidores.

INTRODUCCIÓN

En América Latina se pierde entre el 34% y el 40% de los productos perecederos (como las frutas) antes de llegar a las manos de los consumidores (Fellows, 1994). Un porcentaje de pérdidas tan alto, afecta notablemente la rentabilidad y la competitividad.

Los productos frutícolas son alimentos que se caracterizan por su sabor, color y aroma, pero tienen el inconveniente de ser sensibles debido a su alto contenido de humedad. Es por lo tanto importante, buscar alternativas que permitan la industrialización y la reducción de desperdicios.

La elaboración de productos deshidratados es una tecnología que permite la conservación de frutas (Arthey y Ashurst, 1997) y puede ayudar a disminuir las pérdidas poscosecha agregando valor a las mismas (Genina, 2002).

La deshidratación es el método de conservación de alimentos más antiguo. La extracción de agua tiene la ventaja de inhibir el crecimiento microbiano, bajando los costos de envasado, almacenamiento y de transporte (Barbosas y Vega, 1996). La elección del proceso de deshidratación depende de la naturaleza del producto, forma y calidad requerida y costo del procesamiento.

Combinando la deshidratación osmótica con el secado con aire caliente se logra además un efecto combinado debido a la presencia de azúcares y la disminución de la actividad de agua (Alzamora, 1997).

La evaluación del uso de esta tecnología para frutas de clima templado y tropical es particularmente interesante en nuestro país debido a la diversidad de la producción frutícola que existe.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

Las materias primas utilizadas fueron adquiridas en el mercado de Santa Clara de la ciudad de Quito, estas fueron: banano: *Musa acuminata* (Orito); piña Cayena lisa; manzana variedad Ana; uvilla ecotipo colombiana.

Las operaciones a las que fueron sometidas las frutas se presentan en la figura 1

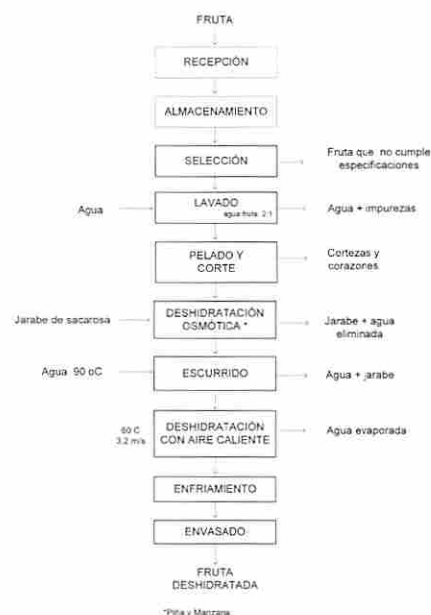


Figura 1. Diagrama de flujo del proceso

Las frutas fueron adquiridas un día antes del proceso y almacenadas a condiciones ambientales. El lavado se realizó con agua con 50 ppm de cloro para orito, 300 ppm para piña, 150 ppm para manzana y 200 ppm para uvilla. El pelado de las frutas (orito y piña) se realizó manualmente. Los oritos fueron cortados en sentido paralelo al eje central en rodajas de 3 mm; las piñas descorazonadas fueron cortadas en rodajas de 8 mm en sentido perpendicular al eje central y luego en cuartos; las manzanas fueron descorazonadas con un sacabocados #10 y cortadas en sentido perpendicular al eje central en un espesor de 3 mm usando un asistente Hover. Para controlar el pardeamiento, las piñas y las manzanas fueron sumergidas en una solución acuosa de 1% de ácido cítrico, y los oritos en una solución de 1% de ácido cítrico y 100 ppm de bisulfito de sodio (Holdsworth, 1988).

Deshidratación osmótica

Las frutas sometidas al proceso de deshidratación osmótica fueron las piñas y las manzanas, ya que este proceso no se recomienda para frutas con contenido de azúcares alto como el orito y en frutas con cortezas cerosas como la uvilla. Para manzana se realizaron ensayos en soluciones de azúcar con dos concentraciones, 50 y 60 °Brix, y a temperatura ambiente (~20 °C) y 50 °C. Para piña se realizaron ensayos a 50 °Brix y temperatura ambiente. En todos los ensayos se mantuvo la misma relación de 1:3 (fruta : solución). Las frutas fueron pesadas cada 30 min durante dos horas para determinar la curva de pérdida de peso.

El proceso se realizó en ollas de acero inoxidable con una capacidad de 5 litros. Finalizada la operación, se retiró la fruta de la solución osmótica y se la sumergió en agua a 90 °C por 40 segundos para eliminar el azúcar superficial.

Deshidratación con aire caliente

Se colocó alrededor de 650 gramos de fruta sobre bandejas de malla plástica (40x42 cm) y se precondicionó en la estufa de secado a 90 °C durante 15 min. Se retiró de la estufa y se temperó durante 10 minutos adicionales. Luego, se fijó las condiciones del aire de la estufa a 60 °C y 3,2 m/seg. Se tomó el peso cada hora hasta obtener peso constante, excepto para uvilla para la que se buscó que la humedad final sea de 20%, para que tenga propiedades similares a las pasas.

Para el envasado se utilizó fundas de polietileno, cada una con 50 gramos de producto.

Métodos de análisis

Para analizar los factores de calidad de las frutas se determinaron las siguientes características físicas y químicas: peso, color mediante tablas referenciales, textura con un penetrómetro marca Mc Cormick, tamaño, sólidos solubles con un refractómetro Westover modelo RHB-32, pH en un equipo marca ORION modelo 210 A, acidez titulable según la norma A.O.A.C. 942.15 (A.O.A.C., 2000), índice de madurez por la relación de Brix y acidez (Villalba et al, 2005), y análisis proximal de acuerdo a las normas NTE INEN 518:98, 781:85 y 520:98. El análisis microbiológico de E. Coli, hongos, levaduras y salmonella de acuerdo a las normas NTE INEN 1529-10, 1529-10, 1529-10, 1529-10.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de materias primas

Los valores promedios de las características físico-químicas en las frutas evaluadas se presentan en las tablas 1 y 2.

Tabla 1. Caracterización físico química de materias primas

	Orito	Piña	Manzana	Uvilla
Peso (g)	104,8 ± 5,5	1416 ± 86	95,41 ± 3,3	4,10 ± 0,79
Diámetro (cm)	3,62 ± 0,12	12,61 ± 0,35	5,65 ± 0,17	2,02 ± 0,12
Longitud (cm)	14,97 ± 0,84	15,37 ± 1,06	6,50 ± 0,36	-
Textura (kgf)*	0,41 ± 0,03	2,17 ± 0,38	3,89 ± 0,45	0,12 ± 0,02
Sólidos solubles	20,16 ± 0,37	10,16 ± 0,24	10,16 ± 0,23	11,21 ± 0,85
PH	4,56 ± 0,03	3,20 ± 0,05	2,81 ± 0,00	3,25 ± 0,10
Acidez	0,11 ± 0,01	0,32 ± 0,01	0,25 ± 0,03	0,57 ± 0,02
Color	6	5	3	5
IM	183,27	31,75	40,64	19,67

Tabla 2. Análisis proximal de las materias primas (g/100g)

PARÁMETROS	Orito	Piña	Manzana	Uvilla
Humedad	78,11	83,00	87,91	84,78
Proteína	0,80	0,50	0,42	1,36
Ceniza	0,47	0,34	0,31	1,24
Fibra	1,30	8,85	5,95	7,62
Carbohidratos digeribles	19,32	7,31	5,41	5,00
Energía (kcal)	80,48	31,24	23,32	25,44

Los resultados muestran que el orito es la fruta con mayor cantidad de sólidos solubles (20,16%). En cuanto a pH y excepto para el banano, los valores medidos en este trabajo son diferentes a los reportados en bibliografía, pero estas diferencias pueden explicarse debido a variaciones de condiciones climáticas. Para la acidez se encuentran también heterogeneidad de los resultados, siendo la uvilla la que mayor acidez presenta (0,57%) y la del orito la más baja (0,11%) (Gaspareto et al., 2004 reportan una acidez de 0,47% para banano). Los valores diversos de los parámetros de calidad se deben a su dependencia con la madurez y variedad de las frutas.

Los resultados de rendimientos de pulpa de las operaciones de pelado y corte se presentan en la tabla 3. Comparando con bibliografía, el rendimiento obtenido en este trabajo es similar para la manzana, pero para la piña el rendimiento es mayor debido a que la variedad seleccionada tiene ojos superficiales y corazón delgado.

Tabla 3. Rendimientos de las materias primas

	% de mermas	Rendimiento en pulpa (%)
Piña	38,97	61,03
Banano	19,23	80,77
Manzana	29,97	70,03

Deshidratación osmótica

La pérdida de peso en la deshidratación osmótica de la manzana se presenta en la figura 2. Se observa que un aumento de concentración del jarabe o de la temperatura incrementa la velocidad de deshidratación. También se observa que la pérdida de peso varía en un rango de 20 a 36% después de dos horas de proceso. Bajo las condiciones indicadas, en promedio se elimina el 22,53 % y 23,90 % de agua para la manzana y la piña, respectivamente.

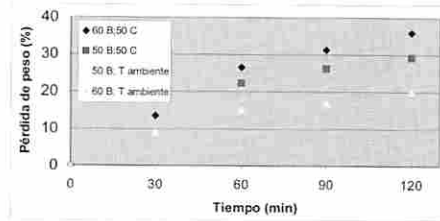


Figura 2. Pérdida de peso durante la deshidratación osmótica de manzana

Deshidratación con aire caliente

Los cambios de la humedad de las frutas se muestran en la figura 3. Durante la primera hora del proceso se observó una disminución significativa de la humedad del sólido en todas las frutas a excepción de la uvilla. Esta disminución para la manzana, está incluso cerca de la mitad del valor de humedad inicial, mientras que para la uvilla existe una resistencia a la deshidratación, pues presenta menor pendiente. La baja velocidad de secado de la uvilla se debe seguramente a la superficie semipermeable que posee.

A partir de la segunda hora de secado se observa una caída de humedad mucho menor para las frutas como orito, piña y manzana.

Para mejorar el proceso, en algunos productos pueden introducirse procesos adicionales para acelerar el secado como por ejemplo, el tratamiento con una disolución de carbonato potásico (2,5% - 4,5%) y aceite de inmersión (mezcla de ésteres etílicos de ácidos grasos o aceite de oliva) parece que modifica la estructura cerosa de algunas frutas, permeabilizándola al agua y facilitando la deshidratación (Arthey y Ashurst, 1997). Esta alternativa se podría experimentar para uvillas.

Con los datos experimentales se calculó el contenido de humedad final de los productos deshidratados mediante balance de masa, y se obtuvo para orito 13,49%, piña 12,89%, manzana 10,15% y uvilla 17,28%. Estos valores se coinciden con los valores obtenidos en el análisis proximal (Tabla 4).

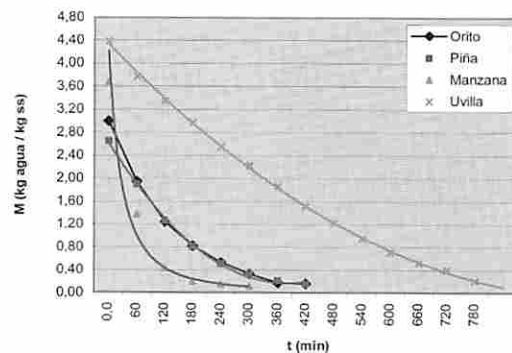


Figura 3. Curvas de secado con aire

En la figura 4 se observan los cambios que experimenta la velocidad de secado en función del contenido de humedad del sólido. Se observa que la velocidad de secado es decreciente (Zapata y Quintero, 2006) y que la fruta que presenta mayor velocidad de secado es la manzana.

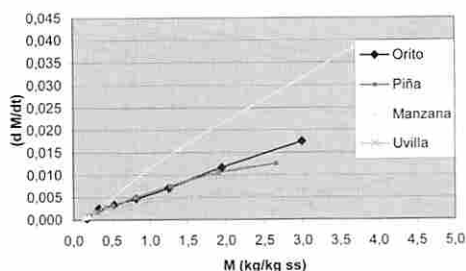


Figura 4. Curvas de velocidad de secado

Caracterización de los productos

El resultado del análisis proximal de las frutas deshidratadas se presenta en la tabla 4. Como podría esperarse, las frutas que aportan más energía son aquellas que fueron sometidas a deshidratación osmótica, debido al aumento de la concentración de azúcares. Además, la humedad de los productos es inferior a 20% lo que garantiza su estabilidad.

Tabla 4. Análisis proximal de las frutas deshidratadas (g/100g)

PARÁMETROS	Orito	Piña	Manzana	Uvilla
Humedad	12,61	11,98	9,30	20,00
Proteína	3,63	1,10	1,00	4,79
Ceniza	2,44	1,04	0,41	6,78
Fibra	4,98	6,07	5,23	23,21
Carbohidratos digeribles	76,34	79,81	84,06	45,22
Energía (kcal)	319,88	323,64	340,24	200,04

El análisis microbiológico dio como resultado un recuento de Escherichia coli, mohos y levaduras inferior a 10 UFC/g y ausencia de salmonella.

Finalmente, las encuestas de aceptabilidad mostraron que en cuanto a apariencia y sabor a fruta, la piña presenta las puntuaciones más altas, de 70 y 100% respectivamente. Las frutas que conservan un olor característico son las piñas (75%) y el orito (75%), mientras que el 20% de los encuestados opinan que la uvilla posee sabores extraños. Al 90% de encuestados le gusta más la piña, seguido del banano con un 70% y la manzana 60%. Tan solo al 30% gusta mucho la uvilla. La única fruta que disgustó al 40% de los encuestados fue la uvilla.

El 85% de encuestados estaría dispuesto a adquirir el producto, mientras el 10% no contesta y el 5% no estaría dispuesto a adquirir el producto.

En conclusión las frutas deshidratadas tienen una buena aceptabilidad y presentan buenas posibilidades de comercialización, excepto para la uvilla.

CONCLUSIONES

- En las pruebas de laboratorio se encontraron rendimientos de extracción de pulpa de 81% para orito, 61% para piña y 70% para manzana. Luego del tratamiento combinado deshidratación osmótica / secado con aire, los rendimientos en fruta deshidratada fueron 19.9% para orito, 12.6% para piña, 10.8% para manzana y 19.8% para uvilla

- En las pruebas de deshidratación osmótica se encontró que los menores cambios en sabor y textura de la fruta se obtienen tratándolas con un jarabe de sacarosa de 50 °Brix y a temperatura ambiente. Con dos horas de tratamiento, la pérdida de peso obtenida fue de alrededor de 20%.
- En el secado con aire, en la primera hora de proceso se obtuvo hasta un 50% de agua evaporada. La velocidad de secado fue siempre decreciente, pero luego de la primera hora de secado la disminución de la velocidad de evaporación de agua fue más importante. Con la manzana se midió la mayor velocidad de secado, mientras que para la uvilla la velocidad de secado fue la más pequeña, seguramente asociado a que las propiedades de la piel de esta fruta.
- Con excepción de la uvilla, las frutas deshidratadas presentan buena aceptación por parte de los posibles consumidores (> 70%), siendo la piña la de mayor aceptación. La comercialización de las frutas es también prometedora, ya que el 85% de encuestados indicaron su apertura a la compra de dicho producto.

REFERENCIAS

- Alzamora, S. 1997. Preservación de Alimentos conservados por factores combinados. Temas en tecnología de alimentos, CYTED.
- A.O.A.C., (2000). Fruits and fruit products. Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists, 17va edición, vol. 2, capítulo 7, Editado por Kenneth Helrich, Arlington – USA.
- Arthey, D. y Ashurst, P. 1997. "Procesado de Frutas". Ed. Acribia, S.A. España. pg. 203-208.
- Barbosa-Cánovas, G. y Vega-Mercado, H. 1996. "Deshidratación de Alimentos". Ed. Acribia S.A., España.
- Fellows, P. 1994. "Tecnología del Procesado de Alimentos". Ed. Acribia S.A., España, págs 287-321.
- Gaspareto, O., Oliverira, E., da Silva, P. y Magalhaes, M. 2004. Influencia del Tratamiento Osmótico en el Secado de la Banana "Nanica" (Musa cavendishii, L) en secador de lecho fijo. Brasil.
- Genina, P. 2002. Deshidratación osmótica: alternativa para conservación de frutas tropicales, vol 21, pág 321-324
- Holdsworth, S. 1988. "Conservación de Frutas y Hortalizas". Ed. Acribia S.A., España, págs 25-159.
- Villalba, M., Yepes, I., Arrázola, G., (2005), Caracterización fisicoquímica de frutas de la zona del Sinu para su agroindustrialización, Colombia.
- Zapata, J. y Quintero, G. 2006. Cinética de la deshidratación osmótica de piña con alcohol etílico como osmodeshidratante.

ELABORACIÓN DE PRODUCTOS LÁCTEOS UTILIZANDO MICROFILTRACIÓN TANGENCIAL (MFT)

Molina, Sandro; Jácome, Alexander; Cuaspu, Amable;
Zambrano, Gloria; Rodríguez, Edison y Vera, Edwin
UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE
FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES
Avenida 17 de Julio (Ciudadela Universitaria)
Casilla 199. E. mail. edryar@yahoo.com, veraedwi@mail.epn.edu.ec
IBARRA -ECUADOR

Palabras clave: procesamiento de alimentos, lácteos, queso, yogurt, microfiltración.

RESUMEN

El presente proyecto de investigación se fundamenta en la utilización de una nueva tecnología, que utiliza leche concentrada por microfiltración tangencial (MFT) en la elaboración de queso semimaduro para sánduche, yogurt tipo II y manjar de leche blanco.

Como en el proceso de MFT la grasa se separa de los demás componentes, todas las pruebas se realizaron con leche descremada al 0.05% de grasa, para luego reconstituirla con emulsionante (Obsiemul MGS-90 al 2%) y grasa vegetal (mantequilla heladera MTH o Lac 5328) o crema según la prueba. En la elaboración de queso maduro se utilizó leche concentrada a un factor de retención volumétrica (FRV) de 4, 5 y 6; en el yogurt con FRV de 2 y en el manjar con FRV de 3.

INTRODUCCIÓN

La evolución agroindustrial hace que a diario se compita por optimizar los procesos industriales, y la industria láctea no es la excepción.

La transformación de la leche en productos elaborados, comprende, generalmente etapas que permiten la variación de los parámetros tecnológicos de éstas, con lo que se puede obtener gran diversidad de productos lácteos (Keating y Rodríguez, 1997; Lawson, 1995).

La microfiltración tangencial es un proceso en el que una solución fluye bajo presión sobre la superficie de una membrana. Como resultado de la presión aplicada, y en función de las propiedades de la membrana y el solvente, ciertos solutos pasan a través de la membrana mientras que otros son retenidos.

La microfiltración se puede emplear para procesos de concentración, fraccionamiento o clarificación con la obtención de dos fracciones líquidas (retenido o concentrado y permeado) de composición diferente entre ellas y del producto inicial. (Tetrapak, 2003).

MATERIALES Y METODOS

Materia prima y elaboración de productos

Para todas las pruebas se utilizó leche descremada y pasteurizada comprada en la Industria lechera Floralp de la ciudad de Ibarra. Los procesos de elaboración de los productos tuvieron las siguientes fases: QUESO: preconcentración, reconstitución, acidificación, adición de colorante innato natural, coagulación, corte de la cuajada, reposo, lavado, batido, desuero, moldeado, prensado, salado, maduración, parafinado y empaque.

YOGURT TIPO II: preconcentración, reconstitución, reposo, pasteurización a 65 °C por 15 min., adición del estabilizante, enfriamiento hasta 45 °C, adición del fermento, fermentación, batido y enfriamiento, envasado y almacenamiento.

MANJAR: preconcentración, reconstitución, precalentamiento, adición de azúcar, concentración, adición de saborizante de guanábana si es necesario, pre enfriamiento y envasado.

Variables y métodos de evaluación

Las variables consideradas para evaluar la calidad y el proceso de elaboración de queso fueron:

- Determinación del pH (utilizando un pH metro)
- Contenido de grasa (NTE INEN 12 - INEN, 2003).
- Determinación de humedad (utilizando una estufa)
- Determinación del rendimiento (relación entre materia prima y producto terminado)
- Determinación de pérdidas en cada etapa del proceso. (balance de materiales)

- Análisis organolépticos.(Prueba de Friedman)
- Determinación del contenido de proteína. (método Kjeldal)
- Análisis microbiológicos (NTE INEN 1529-8: mohos, levaduras y coliformes) (FAO, 1984).

Como variables de respuesta y control de calidad en el manjar obtenido se consideró:

- Contenido de sólidos totales (método de la estufa)
- Rendimiento (relación entre materia prima y producto terminado)
- Tiempo y temperatura de concentración del manjar.
- Análisis organoléptico: olor, color, sabor, textura. (Prueba de Friedman)
- Azúcares totales(NTE INEN 398)
- Análisis microbiológicos (levaduras, mohos y coliformes) a los 3 mejores tratamientos (NTE INEN 172) (FAO, 1984).

Estas variables fueron analizadas durante el proceso de elaboración, como en el producto terminado, lo cual nos permitió observar los cambios físico – químicos resultantes de las reacciones que sufren los ingredientes en la elaboración del manjar de leche.

Durante el proceso de elaboración de yogurt se midieron pesos de todos los productos para evaluar el rendimiento. En el producto terminado se realizaron los siguientes análisis:

- Acidez (NTE INEN 13)
- Consistencia (consistómetro de Bostwick, NTE INEN 1 899:98)
- Grasa (NTE INEN 12)
- Tiempo de fermentación (medición de acidez cada cierto tiempo)
- Análisis sensorial (Prueba de Friedman)
- Sinéresis (Medición de líquido con probeta graduada)
- Sólidos totales (método de la estufa)
- Proteína (método Kjeldal)
- Análisis microbiológicos: mohos, levaduras y coliformes. (NTE INEN 172)

Los resultados en los tres productos elaborados, fueron evaluados utilizando un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial, y se analizaron mediante análisis de variancia, prueba de tukey y DMS al 5%. Los resultados del análisis sensorial se analizaron con la prueba de Friedman al 1% y 5% (Chamorro y Losada, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En Queso:

La figura 1 presenta el contenido de grasa de los quesos preparados utilizando los diferentes tratamientos. Con los datos obtenidos, y de acuerdo a la norma INEN 64 para queso semimaduro, ninguno de estos quesos está dentro de los rangos que establece esta norma en cuanto a cantidad de grasa en base seca. Además, se observó que a menor FRV el contenido de materia grasa en el queso aumenta, seguramente porque la reconstitución se realiza más fácilmente debido a la menor viscosidad de la leche concentrada. También se encontró que la grasa vegetal es la que mejor se restituye con la leche concentrada.

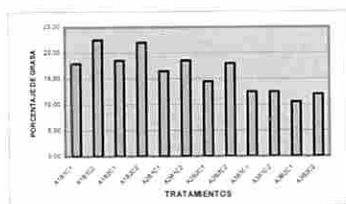


Figura 1. Porcentaje de grasa en el queso (base seca).

En cuanto al líquido de lavado no se puede ver una influencia notable en la retención de grasa, aunque cabe resaltar que la temperatura de lavado de la cuajada fue un poco elevada (60 °C). En promedio, la concentración de materia grasa en el queso fue de 16.3% en base seca.

En cuanto al contenido de proteína en el queso maduro. No existe norma INEN que indique el porcentaje requerido de proteína. Los resultados indican que todas las muestras se encuentran en un rango de 15% a 20% proteína, y no se puede ver que haya una relación entre el contenido de proteína y los diferentes factores en estudio (FRV, tipos de lavado, tipos de grasa). El contenido medio de proteína fue de 17.8%.

Los datos del pH de los quesos, para cada uno de los tratamientos analizados muestran que la mayoría de quesos se encuentra dentro de los rangos establecidos (entre 5.2 a 5.7), excepto en los quesos elaborados con leche concentrada a FRV 6 (tratamientos A3), que tienen un pH elevado y no tuvieron la maduración deseada.

Los resultados de los análisis sensoriales, muestran que no existió diferencia estadística significativa para los atributos apariencia, sabor, textura y olor, es decir los tratamientos fueron estadísticamente iguales. Sin embargo, en cuanto a la apariencia los tratamientos con mayor puntaje fueron cuando se usa FRV 6, lavado con permeado y grasa vegetal (tratamiento A3B2C1), y FRV 6, lavado con agua y grasa vegetal (tratamiento A3B1C1). Con FRV 4 y 5 (tratamientos A1, A2) se obtuvo mayor puntaje en apariencia cuando se utiliza crema de leche.

En Yogurt:

Los resultados del tiempo de fermentación (tabla 1 y 2), muestran que el tiempo de coagulación varía ampliamente según las condiciones empleadas. Realizado el análisis de variancia se ha podido detectar que existe influencia significativa del tipo de grasa y su concentración. Con la prueba de Tukey se encontraron dos rangos diferentes, observándose que las muestras con crema de leche y con mayor porcentaje de grasa fermentan más rápidamente.

Tabla 1. Efecto del tipo de grasa en el tiempo de fermentación

Factor A	Tiempo (h)	Rangos
A2 (crema de leche)	7.52	A
A1 (MT-H)	8.55	B

Tabla 2. Efecto del porcentaje de grasa en el tiempo de fermentación

Factor B	Tiempo (h)	Rangos
B2 (3% de grasa)	7.18	a
B1 (1.5% de grasa)	8.89	b

La consistencia del yogurt es un parámetro que nos indica indirectamente su viscosidad. Los resultados de la medida de consistencia al día siguiente y a los 15 días de elaboración se presentan en las figuras 2 y 3.

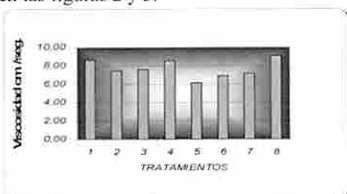


Figura 2. Consistencia a las 24 horas de elaborado el yogurt.

Tratamientos: 1=A1B1C1, 2=A1B2C1, 3=A1B1C2, 4=A1B2C2, 5=A2B2C1, 6=A2B1C1, 7=A2B1C2, 8=A2B2C2



Figura 3. Consistencia a los 15 días de elaborado el yogurt.

Tratamientos: 1=A1B1C1, 2=A1B2C1, 3=A1B1C2, 4=A1B2C2, 5=A2B2C1, 6=A2B1C1, 7=A2B1C2, 8=A2B2C2

En cuanto a la consistencia al día siguiente de la elaboración, se puede observar que no existe una tendencia de acuerdo a las variables empleadas. En efecto, cuando se realizó el análisis de variancia se detectó que no existe diferencia significativa entre los tratamientos. Ni la presencia del estabilizante parece influir en un cambio de la consistencia.

En la sinéresis del yogurt existe influencia estadísticamente significativa del tipo y concentración de materia grasa, y de la presencia o no de estabilizante. Además se encontró que existen interacciones entre estas variables. Con la prueba de Tukey se encontró dos rangos diferentes, cuya principal diferencia es la presencia o no de estabilizante. Se puede observar que la presencia del estabilizante provoca que la sinéresis del yogurt sea inferior. Este resultado se confirma al realizar la prueba de DMS, en donde se puede ver que la sinéresis del yogurt con 0.3% de Obsigel 8-AGT es menor.

También se constató que el porcentaje de grasa utilizado tiene influencia sobre la sinéresis. La prueba DMS para esta variable indica que con 1.5% de materia grasa se disminuye la sinéresis del producto.

El contenido de sólidos totales del yogurt se muestra en la figura 4. Se puede observar que existe una gran variación entre los tratamientos. En efecto, el análisis de la variancia demostró que existe una diferencia significativa, e influencia de las variables porcentaje de grasa y porcentaje de estabilizante

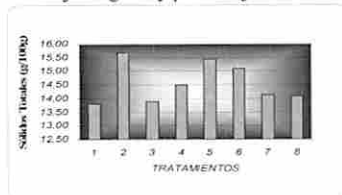


Figura 4. Sólidos totales del yogurt.

Tratamientos: 1=A1B1C1, 2=A1B2C1, 3=A1B1C2, 4=A1B2C2, 5=A2B2C1, 6=A2B1C1, 7=A2B1C2, 8=A2B2C2

Los rendimientos obtenidos (figura 5), son todos superiores al 100% debido que durante el proceso existe adición de materia grasa, estabilizante y fermento. Como se esperaba, se puede apreciar que los tratamientos con 3% de materia grasa tienen los valores más altos de rendimiento. El análisis de variancia también indica que existe influencia significativa del porcentaje de grasa, y no de las otras variables.

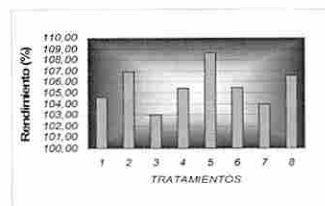


Figura 5. Rendimientos en la obtención de yogurt

Tratamientos: 1=A1B1C1, 2=A1B2C1, 3=A1B1C2, 4=A1B2C2, 5=A2B2C1, 6=A2B1C1, 7=A2B1C2, 8=A2B2C2

En Manjar:

La temperatura media de concentración encontrada es de 84.14 °C. El coeficiente de variación entre las repeticiones, es de 1.38%, lo que indica que el error entre pruebas es bajo. Realizando un análisis de variancia para la temperatura de concentración, se observó que existe una diferencia significativa para los diferentes tratamientos, y una influencia

altamente significativa para el tipo y el porcentaje de grasa utilizada. Al realizar la prueba de Tukey al 5% para tratamientos, se detectó la presencia de dos rangos, lo que corrobora que el tipo y el porcentaje de grasa influyen directamente en la temperatura de concentración. Este análisis muestra también que utilizando la materia grasa MT-H al 2%, las temperaturas de evaporación son las más bajas.

En el rendimiento de producción también existe una diferencia significativa entre tratamientos. El coeficiente de variación encontrado fue de 4.06 % indicando que existe un error bajo entre las repeticiones. La media general del rendimiento es de 41.53%.

Con una prueba de DMS (tabla 3) al 5% se evidenció que el tipo de grasa utilizada influye significativamente y que los mayores rendimientos se obtienen con la grasa MT-H.

Tabla 3. Influencia del tipo de grasa en el rendimiento.

Tipo de grasa	Rendimiento medio (%)	Rangos
MT-H	42.27	a
Crema de leche	40.80	b

CONCLUSIONES

La utilización de leche microfiltrada tangencialmente produjo muy buenos beneficios en el yogur, ya que se obtuvo un producto con mayor contenido de proteína, y consecuentemente mayor porcentaje de sólidos. Además, el uso de diferentes tipos de grasa y estabilizante ayudó a obtener un producto con mayor consistencia y se disminuyó la sinéresis. Con 1.5% de materia grasa y 0.3% de estabilizante, se obtuvo la sinéresis más baja.

En cuanto al tiempo de fermentación de yogur, se encontró que se produce fermentaciones más rápidas cuando se usa crema de leche y concentraciones de grasa altas (3%). El estabilizante parece también influir en el tiempo de fermentación, y se observó que el tiempo se incrementa con el uso de estabilizante.

El porcentaje de grasa de los quesos analizados no están dentro de los parámetros requeridos por la norma INEN NTE 64, debido a que el mayor porcentaje de grasa en las muestras analizadas es de 22.5% y para que cumpla norma se requiere un mínimo de 48%. Sin embargo, las propiedades sensoriales de los quesos son aceptables.

Para el porcentaje de proteína no existe norma alguna, por lo que la proteína encontrada en los quesos analizados no se la puede determinar dentro de un rango.

Al analizar la humedad, encontramos que la mayoría de quesos analizados no cumple con lo referido en la norma INEN NTE 63 que establece un máximo de 39%, siendo el tratamiento con FRV 6, (lavado con permeado y pasa vegetal (A3B2C1) el único que se enmarca dentro de este rango.

El tipo y porcentaje de grasa utilizados en la elaboración del manjar de leche, fueron factores muy importantes que influyen directamente tanto en la temperatura como en el tiempo de concentración del producto.

Las mejores características del manjar de leche se obtuvieron cuando se utilizó crema de leche al 3% o la materia grasa vegetal MT-H al 2%. Los resultados sensoriales incluso señalan que con la materia

grasa vegetal se tiene mejores características de sabor y aroma. Utilizando la MFT las propiedades del manjar de leche obtenidas cambian, sobre todo en cuanto a la coloración clara obtenida. Se puede decir que con la MFT se puede obtener "manjar blanco" que puede interesar a ciertos nichos de mercado.

Finalmente, se encontró que los productos elaborados con materia grasa vegetal (queso, manjar de leche y yogur), presentan características sensoriales muy similares a los productos elaborados con crema de leche.

AGRADECIMIENTO

Los autores de la investigación dejan constancia de agradecimiento al Proyecto SENACYT PIC-089, a la Escuela Politécnica Nacional – DECAB, a la Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales de la Universidad Técnica del Norte, a la Empresa lechera FLORALP - Ibarra y a DANEC.

REFERENCIAS

- Chamorro, M. y Losada M. 2002. "El análisis sensorial de los quesos". Ed. Mundi Prensa. AMV Ediciones, 1ª edición. Madrid - España.
- Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN). 2003. Norma Técnica No 700. Requisitos Dulce de leche. Quito-Ecuador
- Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN). 2003. Norma Técnica No 9:2003. Leche cruda. Requisitos. Quito - Ecuador.
- FAO. 1984. "Manual de microbiología de la leche". Chile.
- Keating, P. y Rodríguez H. 1997. "Introducción a la Lactología". Ed. Limusa S.A. de Grupo Noriega Editores.
- Lawson, H. 1995. "Aceites y Grasas Alimentarios". Ed Acribia S.A.
- Tetrapak. 2003. "Manual de Industrias Lácteas". Ed. Mundi-Prensa Libros S.A. Madrid. pg. 436.

ESTUDIO TECNOLÓGICO DE VARIABLES DE PROCESO MEDIANTE DISEÑO EXPERIMENTAL Y FUNCIÓN DE DOMINANCIA PARA EVALUAR LA CALIDAD SENSORIAL DEL MANJAR DE LECHE CON HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA

Sánchez, Claudio* ; Urgilés, Gabriela; Verdugo, Priscila; Lazo, Jessica y Rojas, Cristian
FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA, UNIVERSIDAD DEL AZUAY
CUENCA - ECUADOR

* Autor correspondiente: csanchez@uazuay.edu.ec

Palabras claves: proceso, manjar hidrolizado, diseño factorial, sensorial, función dominancia

RESUMEN

El trabajo desarrollado presenta una aplicación del diseño experimental factorial combinado con funciones de dominancia al estudio de los características sensoriales del manjar hidrolizado de leche; estudiando simultáneamente el efecto de las variables: Cantidad de enzima β -galactosidasa (X_1), cantidad de azúcar (X_2), concentración de sólidos solubles finales (X_3). Los experimentos ejecutados en el plan de screening han sido un total de 8, resultantes de un diseño factorial 2^3 .

Las diversas percepciones visuales, olfativas y palativas generadas por un panel de catación semi-entrenado han sido estandarizadas entre valores de cero y uno, para posteriormente ser unificadas con el algoritmo de la función de dominancia, representado la respuesta experimental. El Half Normal-Plot de los coeficientes estableció que todos los factores puros estudiados en screening son relevantes, excluyéndose las interacciones entre ellos.

El estudio realizado para la elaboración del manjar de leche con hidrólisis enzimática indicó que los valores máximos de las variables más relevantes permiten mejorar la aceptación sensorial (función de dominancia) del producto, obteniendo además de un producto aceptable para el panel, un alimento funcional que permite su consumo a personas que presentan intolerancia a la lactosa.

INTRODUCCIÓN

El manjar de leche es un producto obtenido por concentración de leche adicionada de sacarosa por evaporación atmosférica o al vacío, aromatizado o no, que además se podrá elaborar con leche entera de vaca o parcialmente descremada, en polvo, crema de leche o con una combinación de todos estos productos [1, 2]. Es un producto de gran consumo en todos los países latinoamericanos, tomando diferentes nombres de acuerdo al país. En el Perú se le denomina "Manjar blanco", en nuestro país se lo conoce con el nombre de "Manjar de Leche", en Colombia como "Arequipe", en Argentina, Uruguay y Paraguay se le denomina "Dulce de Leche". Asimismo su consumo se ha difundido y está en creciente expansión en los Estados Unidos y Europa [3].

En cada región se elabora de diversas maneras pero su composición básica es leche y azúcar. Por esta razón la producción de este elaborado lácteo se va incrementando mejorando su proceso mediante la biotecnología.

Las metodologías experimentales consienten establecer la relación existente entre las variables en estudio y la respuesta experimental al realizar todas las posibles combinaciones entre los niveles alto y bajo de cada factor y sus respectivas interacciones [4]. Un screening, permite estimar cual es el cambio en la respuesta al variar los factores y también la influencia debida a las combinaciones lineales de los mismos [5].

Frecuentemente en el área de los alimentos se tienen que optimizar respuestas que dependen de varias percepciones; por ejemplo, ensayos organolépticos [6]. La importancia del análisis sensorial de los alimentos se define en un sentido amplio como el conjunto de técnicas de medida y evaluación de determinadas propiedades de los alimentos [11]. Normalmente la mayoría de selecciones se basan sobre una serie de preferencias definidas en función de otros criterios. Las funciones multicriterio, tipo función de dominancia, son un instrumento fundamental que permite tener una estrategia matemática para estudiar las diferentes sensaciones gustativas

de las muestras en una sola respuesta que representa el resultado total del experimento [7].

Bajo este concepto, el trabajo experimental realizado presenta un estudio exploratorio de tres factores influyentes sobre el proceso tecnológico del manjar, combinándolo con análisis sensorial del producto, generando diversas sensaciones que serán estudiadas aplicando función de dominancia para englobarlas en una sola respuesta; buscando determinar el polinomio de screening que representa el comportamiento de estos factores frente a la calidad sensorial del manjar.

MATERIALES Y METODOS

Materiales:

Leche de características organolépticas y físicas aceptables, termómetro de escala 0°C a 100°C, incubadora a 37°C, balanza analítica, brixómetro, pipetas, marmita, espátulas. Las pruebas experimentales han sido desarrolladas en el laboratorio piloto de lácteos.

Métodos:

Para la preparación del manjar se siguió el siguiente diagrama de proceso:

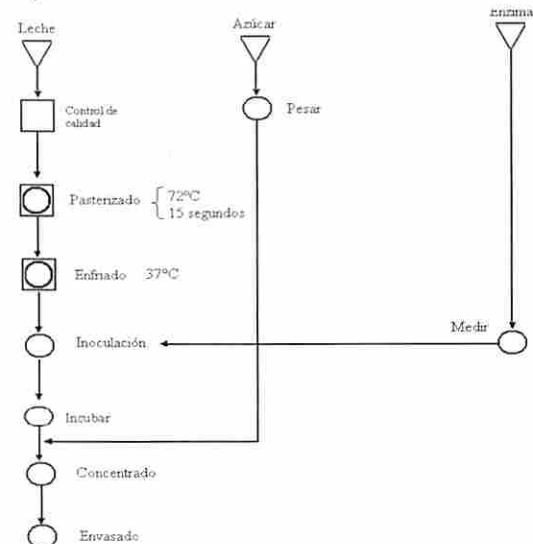


Figura 1. Diagrama de proceso del manjar hidrolizado.

Diseño experimental

En un diseño factorial se estudia la influencia de todas las variables experimentales y sus efectos de interacción sobre una o varias respuestas. Si la combinación de los k factores vienen colocados a dos niveles, el diseño factorial se denota con 2^k experimentos. Los niveles de los factores se definen con (-) para el nivel bajo y (+) para el nivel alto, el nivel central es definido por "0". Casi en todos los procedimientos experimentales, muchas variables influyen en el resultado. Un screening permite determinar las variables experimentales y las interacciones que tienen una influencia significativa sobre el resultado [8]. En otras palabras, permite estimar lo más correctamente posible cual puede ser la influencia que tendrá la respuesta al cambiar independientemente alguno de los

factores y también la influencia del cambio contemporáneo e independiente de dos o más factores [5]. Los experimentos en estos diseños están ubicados en las aristas de un cubo, esta estrategia muestra una vía eficiente para visualizar todo el dominio experimental con 3 factores [9, 10]. El diseño factorial permite obtener un polinomio lineal de variables puras e interacciones que representa la influencia de las mismas sobre una respuesta experimental [4].

Evaluación sensorial

La valoración sensorial ha demostrado ser un instrumento de gran eficacia para el control de calidad y aceptabilidad de un alimento. El análisis sensorial se ha definido como una disciplina científica usada para medir, analizar e interpretar las reacciones percibidas por los sentidos de las personas hacia ciertas características intrínsecas de un alimento como son su sabor, olor, color y textura, que son los indicadores organolépticos de aceptación o rechazo de un producto, por lo que el resultado de este complejo de sensaciones captadas e interpretadas son usadas para medir la calidad de los mismos. La valoración sensorial es útil además para el control del proceso, tanto como adaptación del alimento a su perfil final, como para realizar modificaciones o correcciones; permitiendo obtener condiciones para conseguir datos que posteriormente serán tratados estadísticamente [11].

Función de dominancia

El método de funciones dominantes [7, 12] esta basado en la comparación del comportamiento de los diferentes criterios para cada conjunto de muestras *i* y *j*. En este caso el método no requiere de definir en los términos de una función cuantitativa el recorrido del criterio, sino solamente si el criterio es optimal para un valor mínimo o máximo. Para cada pareja de muestras *i* y *j* se calcula el número de criterios (*k*⁺) para el cual *i* es mejor que *j*, el número de criterios donde *i* y *j* son iguales, y el número de criterios (*k*⁻) para el cual *i* es menor que *j*.

$$C_{ij} = \frac{1 + \sum_{k^+} w_k}{1 + \sum_{k^-} w_k} \quad 0.5 \leq C_{ij} \leq 2 \quad (1)$$

donde:

i son los pesos que satisfacen la relación $\sum_k w_k = 1$

k son los criterios

*w*_{*k*⁺} es el peso de los criterios en el cual la primera muestra es mejor que la segunda.

*w*_{*k*⁻} es el peso de los criterios en el cual la segunda muestra es mejor que la primera.

$$\sum_{r=1}^R w_r = 1 \quad (2)$$

Un valor de *C*_{*ij*}=1 indica igualdad de comportamiento, es decir, *k*⁺=*k*⁻, si todos los pesos son iguales. Si *C*_{*ij*}>1 indica que la muestra *i* es superior a la muestra *j* (*k*⁺>*k*⁻). Finalmente, un valor de *C*_{*ij*}<1 indica que la muestra *i* es inferior a la muestra *j* (*k*⁺<*k*⁻).

La función de dominancia puede ser normaliza entre 0 y 1 según la expresión:

$$C'_{ij} = \frac{C_{ij} - 0.5}{2 - 0.5} \quad (3)$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se han seleccionado las siguientes variables: (1) adición de enzima lactozym (*β*- galactosidas) que pertenece al grupo de las enzimas hidrolíticas: hidrolasas, que tienen la capacidad de producir la hidrólisis de los disacáridos, con la cantidad máxima de 8.7ml/lit se produce una hidrólisis del 80% y con una cantidad mínima de 0.7ml/lit se produce una hidrólisis del 20%. (2) concentración de sólidos y (3) cantidad de azúcar. Con estos factores se aplicó un diseño factorial completo a dos niveles. Los valores reales se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 1. Variables de proceso y condiciones experimentales

Variable	Atributo	Unidad	Máximo (+1)	Mínimo (-1)
X ₁	Enzima	ml/lit	8.7	0.7
X ₂	Azúcar	g/lit	205.6	102.8
X ₃	Sólidos solubles finales	Brix	75.0	70.0

De cada experimento se ha realizado un análisis sensorial con un panel de catación semi-entrenado de 20 personas que han sido escogidos mediante pruebas de selección de catadores en función de su sensibilidad [11]. En el análisis gustativo se utilizó la prueba descriptiva con calificación de escalas de intervalo a cinco puntos [13]. En ésta, cada panelista dentro de la ficha de catación registró en una escala ordinal desde 1 (mínima percepción) hasta 5 (máxima percepción) cada uno de los atributos, posteriormente normalizados entre valores de cero y uno.

Para cada par de experimentos se calcula el número de propiedades sensoriales para las cuales el primer manjar es mejor que el primero, para el cual ambos son iguales y el número de criterios para el cual el segundo es mejor que el primero. Obteniéndose finalmente la función de dominancia correspondiente:

Tabla 2. Respuestas sensoriales y función de dominancia

Exp.	Color	Aroma	Sabor	Dulzor	Untosidad	Consistencia	Dominancia
1	2.0	3.0	4.0	4.0	2.5	2.0	0.160
2	5.0	3.0	4.0	4.0	3.5	3.0	0.360
3	3.0	3.0	3.5	4.0	4.0	4.0	0.303
4	4.0	3.5	3.5	3.0	4.0	4.0	0.371
5	4.0	3.0	3.0	3.0	4.0	4.0	0.225
6	3.0	3.0	4.0	4.0	4.0	4.0	0.400
7	4.0	3.0	3.5	4.0	4.0	4.0	0.376
8	4.5	3.5	4.0	4.0	4.0	4.0	0.662

La función de dominancia representa la respuesta experimental, de esta manera queda establecida la matriz del modelo experimental y el vector respuestas:

Tabla 3. Matriz experimental del modelo de screening

Exp.	I	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁ X ₂	X ₁ X ₃	X ₂ X ₃	X ₁ X ₂ X ₃	F. D.
1	+1	-1	-1	-1	+1	+1	+1	-1	0.160
2	+1	+1	-1	-1	-1	-1	+1	+1	0.360
3	+1	-1	+1	-1	-1	+1	-1	+1	0.303
4	+1	+1	+1	-1	+1	-1	-1	-1	0.371
5	+1	-1	-1	+1	+1	-1	-1	+1	0.225
6	+1	+1	-1	+1	-1	+1	-1	-1	0.400
7	+1	-1	+1	+1	-1	-1	+1	-1	0.376
8	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	0.662

Aplicando regresión de mínimos cuadrados multivariante [14] se determinan los coeficientes que definen el modelo completo de screening:

$$F.D. = 0.357125 + 0.0911X_1 + 0.0709X_2 + 0.0586X_3 - 0.0026X_1X_2 + 0.0241X_1X_3 + 0.0324X_1X_2X_3 \quad (4)$$

La significatividad de los coeficientes de las variables se ha determinado mediante el método gráfico probabilístico del Half-Normal Plot [4].

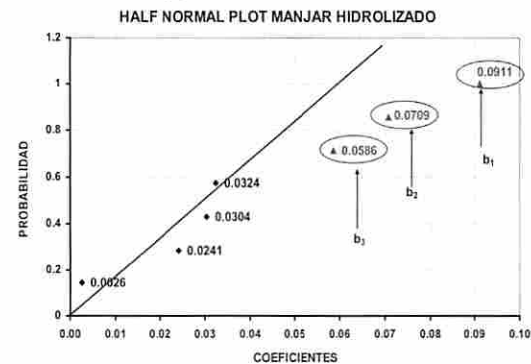


Figura 2. Half Normal-Plot de los coeficientes de regresión

De la gráfica anterior se establece que los coeficientes relevantes corresponden a los de las variables puras, es decir, enzima, azúcar y sólidos solubles finales. Los coeficientes de las interacciones se descartan, pues su distribución dentro de la curva indica que se confunden con el ruido experimental. El polinomio reducido de screening resulta:

$$F.D. = 0.357125 + 0.0911X_1 + 0.0709X_2 + 0.0586X_3 \quad (5)$$

Analizando el polinomio reducido (5) podemos observar que las tres variables tienen una influencia sinérgica, es decir, que

al aumentar su cantidad también aumenta la función de dominancia (aceptación sensorial); presentando una mayor relevancia la cantidad de enzima adicionada; explicándose como la capacidad de degradar la lactosa en sus monosacáridos estructurales glucosa y galactosa, que es precisamente la que viene aprovechada en la industria del dulce de leche, contribuyendo a disminuir el efecto nocivo de la cristalización excesiva de la lactosa [15, 16]. Por otro lado, la β -galactosidasa o lactasa, al desdoblar la lactosa permite el consumo del producto por poblaciones no tolerantes a este disacárido [17, 18].

El azúcar también posee una notoria relevancia disminuyendo el tiempo de concentración del dulce. La cantidad de sacarosa en la elaboración del manjar es una variable importante pues de esta depende la coloración y el grado de dulzor del producto final [16].

Finalmente, el porcentaje de sólidos solubles finales, brinda el punto final de concentración del manjar para con ello obtener un producto de características organolépticas adecuadas [16].

CONCLUSIONES

Del polinomio reducido de screening se demuestra que el producto más aceptable corresponde al que posee mayor grado de hidrólisis. La hidrólisis de la lactosa en azúcares más asimilables es propia de los alimentos funcionales, permitiendo su consumo a personas que presentan intolerancia.

Por otro lado, las variables estudiadas influyen a nivel de efectos principales, incrementando la aceptación sensorial (función de dominancia) al aumentar sus cantidades. Las interacciones entre dichas variables, no tienen mayor relevancia en la calidad final.

Una estrategia experimental combinada con análisis sensorial de productos alimenticios y funciones de dominancia, permite tener una visión global y amplia de la problemática de las variables de procesos y sus relevancias. Permitiendo demostrar en el caso del manjar de leche, que cuando es elaborado con cantidades altas de enzima aumenta su aceptabilidad, debido a que sus características organolépticas vienen mejoradas.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Desrosier, N. 1991. Conservación de alimentos, Editorial Continental S.A., México, México. pp. 329.
- [2] Veisseyre, R. 1988. Lactología técnica, Editorial Acribia S.A., Zaragoza, España. pp. 240.
- [3] http://www.ewakulak.com/colombia/asi_es_colombia/arequipe_dulce_cremoso_de_leche_y_azucar.html
- [4] Lewis, G.A., Mathieu, D., and Phan-Tan-Luu, R. 1999. Pharmaceutical experimental design, Marcel Dekker, Inc., New York, U.S.A. pp. 38-42, 99-100.
- [5] Marengo, E. 1994. Ottimizzazione di processo e pianificazione sperimentale, Talete S.r.l., Milano, Italia. pp.52-79.
- [6] Montedoro, G. 1985. Definizioni ed analisi delle caratteristiche olfattive e gustative degli alimenti", Chiriotti Editori, Pinerolo, Italia. pp. 1-4.
- [7] Todeschini, R. 1998. Introduzione alla chemiometria, Edites S.r.l., Napoli, Italia. Pp. 186-187.
- [8] Lundstedt, T., Seifert, E., Abramo, L., Thelin, B., Nyström, Å., Pettersen, J. and Bergman, R. 1998. Experimental design and optimization, *Chemometr. Intel. Lab. Syst.*, 42: 3-40.
- [9] Massart, D.L., Vandeginste, B.G.M. and Buydens, L.M.C. 1997. "Handbook of chemometrics and qualimetrics: Part A", Elsevier Science B.V., Amsterdam, The Netherlands, pp. 683-688.
- [10] Carlson, R. 1992. Design and optimization in organic synthesis, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, Netherlands. pp. 89-99.
- [11] Sancho, J., Bota, E. y De Castro, J.J. 2002. Introducción al análisis sensorial de los alimentos, Alfaomega grupo editor, S.A. de C.V., México, D.F., México. pp. 23-31, 119.
- [12] Pavan, M. 2003. Total and partial ranking methods in chemical sciences. Ph.D. thesis in chemical sciences, University of Milano-Bicocca, Milano, Italy. pp. 1-7.
- [13] Anzaldúa, A. 1994. La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica, Editorial Acribia, S. A., Zaragoza, España. pp. 96.
- [14] Draper, N.R. and Smith, H. 1981. Applied regression analysis, John Wiley & Sons, Inc., New York, U.S.A. pp. 59.
- [15] Alais, C. 1985. Ciencia de la leche, Editorial Reverte S.A., Barcelona, España. pp.805.
- [16] Amiot, J. 1991. Ciencia y tecnología de la leche, Editorial Acribia, S. A., Zaragoza, España. pp. 317, 391.
- [17] Robinson, R. K. 1987. Microbiología lactológica. Volumen I. Microbiología de la leche, Editorial Acribia, S. A., Zaragoza, España. pp. 184.
- [18] Fox, P.F. and McSweeney, P.L.H. 1998. Dairy chemistry and biochemistry, Published by Blackie Academic & Professional, London, UK, pp. 42-43.

EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LA PECTINA EN TRES ESPECIES DEL GÉNERO *VASCONCELLEA*, NATIVAS DEL SUR DEL ECUADOR

Atarihuana S. María G., Montalbán Odila G., Rojas A. Sandra P., Tene T. Ángel V.
 Centro de Transferencia de Tecnología e Investigación Agroindustrial (CETTIA)
 Universidad Técnica Particular de Loja
avtene@utpl.edu.ec

Palabras clave: *Vasconcellea*, pectina, extracción, caracterización.

RESUMEN

Se optimizó el pH, temperatura y tiempo para la extracción de la pectina en la *Vasconcellea stipulata*, los niveles de los factores ensayados fueron: temperatura (60, 70 y 80 °C), tiempo (60, 70 y 80 minutos) y pH (1.2, 1.5 y 1.8). Los mejores tratamientos para la *V. stipulata* en función del grado de esterificación, se aplicó a las especies: *V. cundinamarcensis* y *V. heilbornii* var *Guizhaguña*, para determinar el porcentaje de pectina en base seca, el grado de esterificación (GE) y ácidos galacturónicos anhidros totales (AGT). La mejor pectina obtenida de estas especies se la comparó con la pectina comercial, con base a sus características químicas.

Con éstos parámetros, los valores máximos obtenidos son los siguientes, para la *V. stipulata*: rendimiento 27.66 % y 31.84 %, GE de 82.63% y 86.10% y AGT de 56.85 % y 80.40 %; para la *V. cundinamarcensis*: rendimiento 52.28% y 53.17%, GE de 75.67% y 82.98% y AGT de 48.36 y 54.84%; y, para la *V. heilbornii* var. *Guizhaguña*: rendimiento de 15.35 % y 17.29 %, GE de 76.77 % y 85.25 % y, AGT de 38.18% y 43.00%.

Las características químicas de la pectina extraída de la *V. stipulata* utilizando un pH 1.2 y 1.5, temperatura de 60 y 70 °C y para un tiempo constante de 70 minutos es comparable a las características de la pectina comercial y cumplen con las especificaciones del FCC en lo que se refiere a cenizas totales, % de GE, contenido de disolvente y plomo. La pectina extraída a pH de 1.2 y 70°C y tiempo de 70 minutos no cumple con las especificaciones de la FCC en porcentaje de AGT, cenizas insolubles en ácido y arsénico.

INTRODUCCIÓN

El Ecuador es uno de los países más ricos en diversidad y disponibilidad de recursos fitogenéticos de trascendental importancia económica; uno de estos recursos lo constituye las especies del género *Vasconcellea*. [1]. En el Ecuador se han identificado 17 especies de *Vasconcellea*, de las 21 registradas a nivel mundial; en la región sur del Ecuador actualmente se han registrado 12 especies, es decir el 57 % de las especies de *Vasconcellea* del mundo [2], de estas, dos son endémicas (*V. omilingua* y *V. palandensis*).

El presente trabajo tiene como fin, promover el cultivo de especies nativas del género *Vasconcellea* en el sur del Ecuador, a través de la investigación e industrialización de las mismas; su propósito es extraer y caracterizar la pectina contenida en la pulpa de tres especies del género *Vasconcellea*, nativas del sur del Ecuador.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

Se utilizaron frutos de *Vasconcellea* recolectados en diversos lugares de los cantones Loja, Saraguro y Espindola de la provincia de Loja.

Proceso de extracción

El proceso de extracción fue el utilizado para la extracción de la pectina de otras frutas y reportado por varios autores.

Cuantificación de las características físico – químicas

El rendimiento se cuantifica según Pagan [2], el grado de esterificación, ácidos galacturónicos, cenizas, contenido en

disolvente, plomo y arsénico a través de las técnicas del Food Chemical Codex(FCC)[3].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Rendimiento en pectina de la *Vasconcellea stipulata*

El rendimiento en pectina expresado en base seca de la *V. stipulata* se muestra en la Tabla No 1, los resultados corresponden a un promedio de un análisis con dos repeticiones.

Tabla No 1. Rendimiento promedio en pectina del género *Vasconcellea stipulata*

Temperatura (° C)	Tiempo (min)	pH		
		1.2	1.5	1.8
60	60	23.2456	39.5824	38.1737
	70	20.8518	24.4782	35.0644
	80	27.2990	32.4672	41.9365
70	60	33.9248	18.1282	38.4940
	70	31.7511	32.6187	34.9653
	80	30.8513	25.8275	52.1140
80	60	44.0771	23.3722	31.3393
	70	28.7835	22.5167	30.6532
	80	33.2289	33.3571	24.9413

Un análisis estadístico demuestra que existe influencia de los factores estudiados e interacción entre ellos, a un nivel de significación de 0.05 ($P < 0.05$). Se observa el efecto del pH a una temperatura de 60 °C y un tiempo de 80 minutos; en donde pasa de 27.29% a pH de 1.2 a 41.93% a pH de 1.8; igual tendencia se observa a una temperatura de 70 °C y un tiempo de 80 minutos; en donde pasa de 30.85% a pH de 1.2 a 52.11% a pH de 1.8.

Grado de esterificación (GE).

El grado de esterificación de la *V. stipulata* se muestra en la Tabla No 2.

Tabla No 2 Grado de esterificación (GE) de la *V. stipulata* expresado en porcentaje

Temperatura (° C)	Tiempo (min)	pH		
		1.2	1.5	1.8
60	60	83.7272	77.5426	60.2315
	70	84.3711	87.1435	71.1928
	80	70.5942	80.5386	66.2659
70	60	70.7866	69.3661	66.0151
	70	87.7453	77.4733	67.6094
	80	80.6438	77.3905	59.6786
80	60	80.4551	85.1922	83.7425
	70	81.9840	82.4537	82.1720
	80	84.2361	87.4802	85.9420

Un análisis estadístico a los datos de la tabla siguiente demuestran que existe influencia de los factores e interacción entre ellos en el grado de esterificación de la pectina extraída de la *V. stipulata* a un nivel de significación de 0.05 ($P < 0.05$). Sin embargo, no se observa tendencias claras del efecto del pH, temperatura y tiempo sobre el grado de esterificación; a un pH de 1.2 y tiempo de 80 minutos

se observa un incremento del GE a medida que se incrementa la temperatura, desde 70.59% a 60 °C hasta 84.23% a 80 °C. Igualmente, se puede concluir que el mejor tratamiento corresponde a un pH de 1.2, una temperatura de 70 °C y un tiempo de 70 minutos, en las que se obtendría una pectina de 87.74% de GE.

Ácidos galacturónidos anhidros totales (AGT)

El porcentaje de ácidos galacturónicos anhidros totales de la *V. stipulata* se muestra en la Tabla No 3, los resultados corresponden a un análisis con dos repeticiones.

Tabla N 3 Ácidos galacturónidos anhidros totales (AGT) de la *V. stipulata* expresados en porcentaje

Temperatura (°C)	Tiempo (min)	pH		
		1.2	1.5	1.8
60	60	73.077	45.383	48.288
	70	57.159	83.215	56.813
	80	55.071	68.010	45.365
70	60	75.319	57.636	47.533
	70	55.457	44.684	43.644
	80	49.665	52.478	29.072
80	60	52.371	64.592	43.250
	70	62.325	56.713	52.983
	80	47.878	57.581	58.639

Un análisis estadístico demuestran que existe influencia de los factores e interacción entre ellos, a un nivel de significación de 0.05 (P<0.05). Al analizar la tabla anterior, no se observa un efecto claro de los tratamientos; con un pH de 1.2, temperatura de 70°C y tiempo de 60 minutos se obtiene un AGT de 75.31%; a un pH de 1.5, temperatura de 60 °C y tiempo de 70 minutos se obtiene un AGT de 83.21%.

Rendimiento, grado de esterificación y ácidos galacturónidos anhidros totales en las tres especies del género *Vasconcellea*.

Rendimiento promedio de las *Vasconcellea*

El rendimiento en pectina expresado en base seca de las tres especies de *Vasconcellea* se muestra en la tabla No 4, estos valores corresponden a un promedio de un análisis con tres repeticiones.

Tabla No 4. Rendimiento promedio en pectina de tres especies del género *Vasconcellea* expresado en porcentaje

Especie	Temperatura	pH	
		1.2	1.5
<i>V. stipulata</i>	60	18.5405	22.1413
	70	27.6603	31.8404
<i>V. cundinamarcensis</i>	60	26.0820	52.2814
	70	26.2991	53.1732
<i>V. heilbornii</i> var. <i>Guizhaguña</i>	60	15.3503	13.2702
	70	5.2159	17.2990

Bajo las condiciones estudiadas para la extracción de la pectina, las especies que proporcionan un mayor rendimiento es la *Vasconcellea cundinamarcensis* (53.17% y 52.28%) y la *Vasconcellea stipulata* (31.84% y 27.66%). Un análisis estadístico demuestran que existe influencia de la especie de *Vasconcellea*, de los factores y que existe interacción entre ellos a nivel de significación de 0.05 (P<0.05).

D'Addosio[4] obtuvo un rendimiento del 18.45 % de pectina en la corteza de maracuyá mediante una hidrólisis a un pH de 3.0, temperatura de 90– 95 °C y un tiempo de 90 minutos. Camejo [5] reporta un rendimiento de 17.4% en la corteza de toronja utilizando un pH de 2 y 90 °C. No obstante, en la corteza de limón, a un pH de 2.5 y temperatura de 90°C, el rendimiento fue de 20.54% [6].

El rendimiento más alto en pectina de las 3 especies en estudio, lo tuvo la *V. cundinamarcensis* (53.17%) a un pH de 1.5, 70 °C y 70 minutos, siendo este valor mayor en

comparación al rendimiento extraídas de las cortezas de toronja, limón y maracuyá.

Grado de esterificación (GE)

Tabla No 5. Grado de esterificación (GE) promedio de las tres especies de *Vasconcellea* expresado en porcentaje

	Temperatura	pH	
		1.2	1.5
<i>V. stipulata</i>	60	80.7727	82.6332
	70	86.1055	77.8479
<i>V. cundinamarcensis</i>	60	56.6959	74.1227
	70	75.6719	82.9886
<i>V. heilbornii</i> var. <i>Guizhaguña</i>	60	85.2502	75.4319
	70	74.3843	76.7781

De la tabla anterior, se observa que para un pH de 1.2 el porcentaje de GE se incrementa de 80.77% a 86.10% al pasar la temperatura de 60 a 70 °C para la *Vasconcellea stipulata*. Similar tendencia se observa para la *Vasconcellea cundinamarcensis* en donde el porcentaje de GE pasa de 56.69 a 75.67%, para la *Vasconcellea heilbornii* var. *Guizhaguña* el GE disminuye al incrementar la temperatura. Para un pH de 1.5 no existe un efecto claro de la temperatura en las tres especies. El GE más alto (86.10%) corresponde a la pectina de la *Vasconcellea stipulata* extraída a un pH de 1.2, una temperatura de 70 °C y tiempo de 70 minutos.

Según D'Addosio [4] la pectina de maracuyá variedad blanca extraída con ácido clorhídrico tiene un 72.05% de GE. La pectina de melocotón extraída a un pH de 1.2, temperatura de 80 °C y tiempo de 80 minutos tiene un GE de 78.71%; mientras que la extraída a un pH de 1.5 a una temperatura de 80 °C para un tiempo de 80 minutos tiene un GE de 80.86% [7]; finalmente, la extraída a un pH de 1.8 a una temperatura de 80 °C y un tiempo de 80 minutos tiene un GE de 87.95%.

Según Pagan [7] la pectina del bagazo de melocotón presenta un porcentaje de GE de 78.15 obtenida a un de pH 1.2 y 60°C. Para estos mismos valores de pH y temperatura la pectina extraída de la *Vasconcellea stipulata* posee 80.77 %, la *V. cundinamarcensis* 56.69% y la *V. heilbornii* var. *Guizhaguña* 85.25%; la única especie que tiene un GE inferior al de la pectina del melocotón es la *V. cundinamarcensis*. La pectina del melocotón extraída a un pH 1.5, 80 minutos y 60 °C posee un GE de 74.12%. Con los mismos el GE de la *Vasconcellea stipulata* es de 82.63%; el de la *V. cundinamarcensis* 74.12 % y de la *V. heilbornii* var. *Guizhaguña*, 75.43 %.

Ácidos anhidro galacturónidos (AGT)

En la tabla siguiente se observa que para el pH de 1.2 el AGT se incrementa en función de la temperatura para la pectina extraída de la *Vasconcellea cundinamarcensis* y de la *V. heilbornii* var. *Guizhaguña* hecho que no ocurre en la *V. stipulata* y no se observa claramente la influencia del pH sobre el AGT de las especies estudiadas.

Tabla No 6 Ácidos galacturónidos anhidros totales (AGT) de las tres especies de *Vasconcellea* expresados en porcentaje

	Temperatura	pH	
		1.2	1.5
<i>V. stipulata</i>	60	56.8594	80.4020
	70	53.8231	41.2714
<i>V. cundinamarcensis</i>	60	21.8992	26.8753
	70	48.3660	54.8447
<i>V. heilbornii</i> var. <i>Guizhaguña</i>	60	37.2563	32.4460
	70	43.0087	38.1830

En conclusión: el mejor tratamiento en porcentaje referente al AGT (80.40%) corresponde a la pectina extraída de la *V. stipulata* utilizando un pH de 1.5 y temperatura de 60 °C y tiempo constante.

El porcentaje de AGT en la toronja está en un rango de 66.5 a 91.05% [5] y en el limón entre 38.67 a 52.83% [6]. En la *Vasconcellea stipulata*, el valor máximo (83.29%) es inferior al de la toronja, pero superior al del limón. D'Addosio [4] reporto un AGT de 78% de la pectina de la cáscara de maracuyá en la coloración verde- blanco. Para la corteza de limón el AGT fue de 52.83% reportado por Camejo [6]. Por último Miranda [8] reporta para la pectina de la cidra un AGT de 92.02% con un pH comprendido entre 1.5 y 2.5, a una temperatura de 85°C y tiempo de 60 minutos. En el presente estudio, el mayor AGT (80.4%) corresponde a la *V. stipulata*, lo cual es superior a las investigaciones anteriores y menor al de la cidra.

Comparación de las mejores características químicas de la pectina extraída con las de la pectina comercial a través de las especificaciones del Food Chemical Codex. (FCC).

La siguiente tabla muestra las características de los dos tratamientos escogidos de la fase anterior y de la pectina comercial.

Tabla 7 Comparación de características promedio entre las pectinas obtenidas y la comercial

PARAMETROS	TRA T 2*	TRA T 3**	PECTINA COMERCIAL	Especificaciones
1. Cenizas(%)	10	10	9.75	≤ 10 %FCC
2. Cenizas insolubles en ácido (%)	0.7875	1.1505	0.2384	≤ 1 %
3. GE (%)	70.632	78.765	94.537	≥ 50 %
4. AGT (%)	73.148	42.363	76.072	≥ 70 %
5. Contenido de disolvente (%)	8.315	9.135	6.812	≤ 12 %
6. Plomo (ppm ó µg/kg)***	0.67	0.86	0.44	≤ 10 ppm
7. Arsénico (mg/kg)***	2.04	3.96	2.38	≤ 3 %

* : Tratamiento 2 = pH: 1.5, 70 min, 60 °C

** : Tratamiento 3 = pH: 1.2, 70 min, 70 °C

***: Laboratorio de Química Ambiental (Quito)

Fuente: Investigación experimental

Elaboración: Las autoras

De la tabla anterior se concluye que la pectina extraída de la *Vasconcellea stipulata* cumple con las especificaciones dadas por el FCC en lo que se refiere al porcentaje de cenizas y GE, contenido de disolvente y plomo. La pectina extraída con el tratamiento 3 no cumple en lo que se refiere a cenizas insolubles en ácido, AGT y arsénico. La pectina comercial cumple con todas las especificaciones dada por la FCC. Los valores de cenizas totales descritos por D'Addosio [4] se hallan en un rango de 3.02 y 3.75 %, los cuales son bajos en relación a las muestras analizadas en esta tesis.

CONCLUSIONES

De los resultados de la presente investigación se puede concluir lo siguiente:

- El rendimiento de las tres especies de *Vasconcellea* difieren significativamente desde un valor de 5.21 en la *V. heilbornii* var. *Guizhaguña* hasta un 53.17% en la *V. cundinamarcaensis*.

- Las pectinas de las *Vasconcellea* tienen diferentes valores de GE y van desde 56.7% en la *V. cundinamarcaensis* a 86.11 % en la *V. stipulata*
- Los factores estudiados: temperatura, tiempo y pH influyen en el porcentaje de rendimiento, GE y AGT de las especies en estudio.
- El mayor rendimiento se consigue a un pH de 1.5 con una temperatura de 70 °C con los que se obtiene un rendimiento del 53.17% en la *V. cundinamarcaensis*.
- El más alto valor del grado de esterificación 86.10%, se obtiene con la *vasconcellea stipulata* extraída a un pH de 1.2 y una temperatura de 70 °C.
- El mejor tratamiento en porcentaje de ácidos galacturónicos anhidros totales (80.40%) fue obtenido a pH 1.5, temperatura de 60°C y tiempo constante.
- Las características químicas de las pectinas extraídas cumplen con las especificaciones de la FCC en lo que se refiere al porcentaje de cenizas totales, %GE, plomo, contenido de disolvente, la pectina extraída a pH 1.2 no cumple en lo que se refiere a cenizas insolubles en ácido, arsénico y % AGT. La pectina comercial cumple con todas estas especificaciones.

RECOMENDACIONES

- Al extraer pectina se recomienda estandarizar los procesos de extracción para que no exista variabilidad en las medidas de pH y temperatura principalmente, los reactivos para la hidrólisis y lavados deben ser de calidad.
- Lavar bien la pectina precipitada para no falsear el porcentaje de rendimiento y el porcentaje de ácidos galacturónicos anhidros totales.
- Luego de la formación del coágulo de la pectina (precipitación), el proceso de filtración se debe realizar con sumo cuidado y de forma natural (gravedad), sin ayuda mecánica o física para evitar las pérdidas de este polisacárido.
- La utilización del género *Vasconcellea* en la industria aún no ha sido explotada en todas sus dimensiones por la falta de investigaciones, aspiramos que este trabajo constituya un aporte fundamental para que estas especies sean incorporadas en la industria alimenticia.

BIBLIOGRAFÍA:

- BADILLO, V., *Carica L. vs. Vasconcellea St. III. (Caricaceae) con la reactivación de este último* 2000, Facultad de Agronomía, Instituto de Botánica Agrícola, Universidad Central de Venezuela: Maracaibo-Venezuela. p. 74-79.
- MORALES SANCHEZ, A.E., *Conservación ex-situ de Vasconcellea y Rubus en la Región Sur del Ecuador, in Escuela de Agropecuaria*. 2006, Universidad Técnica Particular de Loja: Loja. p. 108p.
- KIMBALL, D.A., *Procesado de cítricos*. Segunda ed. 2002, España: Editorial Acribia S.A. 368-376.
- D'ADDOSIO, e.a. *Obtención y caracterización de pectina a partir de la cáscara de parchita (Passiflora edulis f. flavicarpa Degener)* 2005 [cited 26/03/2006]; Revista Facultad de Agronomía; Available from: http://www.revfacagronluz.org_VE/PDF/julio_septiembre2005/d'addosio.pdf.
- CAMEJO DE A. C., et al., *Extracción y caracterización de pectina en toronja en la región Zulia*. 1994 [cited 17/02/2006]; Available from: http://www.revfacagronluz.org_ve/v13_5/v135z013.html.
- CAMEJO DE A. C., et al., *Extracción y caracterización de pectina en limones injertados de la región Zulia*. 1994 [cited 17/02/2006]; Available from: http://www.revfacagronluz.org_ve/v13_5/v135z012.html.
- PAGAN, I. *Degradación enzimática y características físicas y químicas de la pectina del bagazo de melocotón*. 1996 [cited 07/11/2006]; Available from: http://descargascervantesvirtual.com/servlet/SirveObras/01383875355804721199_802/002339.pdf
- MIRANDA I, R.D. *Extracción y Caracterización de Pectina de Citrus medica L. (Cidra)*. 2005 [cited 12/05/2006]; Available from: <http://www.cienciaperu.org/cci2005v/resumenesci2005v.htm>.

EVALUACIÓN DEL USO DE LA MICROFILTRACIÓN TANGENCIAL (MFT) EN LA CONCENTRACIÓN DE LECHE PARA LA ELABORACIÓN DE QUESO

Arias, Mery; Espinel, Alexandra y Vera, Edwin
 ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
 DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA
 Pasaje Andalucía E 12A y Veintimilla
 Casilla 17-01-2759. E. mail. veraedwi@mail.epn.edu.ec
 QUITO - ECUADOR

Palabras clave: procesamiento de alimentos, microfiltración., membranas, lácteos

RESUMEN

En esta investigación se estudió la preconcentración de leche usando MFT para la elaboración de queso fresco. Para optimizar el tratamiento por MFT se realizaron pruebas para evaluar la influencia de la presión, el contenido de proteína y de materia grasa sobre la velocidad de concentración. Posteriormente se evaluó el proceso de elaboración de queso usando la leche preconcentrada.

Se realizaron pruebas de MFT a nivel piloto usando membranas de 0,1 μm y 0,2 μm , presiones de hasta 4 bar, leche a distintas concentraciones de grasa, y factores de retención volumétrica (FRV) entre 2 y 4. Luego se elaboró quesos usando leche concentrada y leche sin concentrar, con el fin de compararlos a nivel de rendimiento y propiedades físico-químicas y sensoriales. Se estudió también el secado del lactosuero obtenido durante la MFT.

Se encontró que con la membrana de 0,1 μm se retiene casi totalmente la caseína y la materia grasa, y que el contenido de grasa tiene una influencia importante en el flujo de permeado. En la elaboración de queso se encontró que el contenido de grasa está influenciado por el nivel de concentración durante la MFT, que no existe aumento de rendimiento, pero se puede simplificar ciertas operaciones y obtener un producto con similares características al queso elaborado con leche sin concentrar.

INTRODUCCIÓN

La microfiltración tangencial es una tecnología de membranas, que se ha difundido en los últimos años en gran escala a nivel industrial debido a las ventajas que presenta (Huisman, 1998). El uso de la MFT en la industria láctea es ampliamente distribuido, principalmente para la concentración de las proteínas del lactosuero (Luquet, 1993), pero existe poca información sobre su aplicación en la elaboración de productos lácteos.

Así por ejemplo, durante el proceso de fabricación de queso se conoce que existen pérdidas de caseína, la misma que parte en el suero que se obtiene luego del corte, lavado y desuerado de la cuajada (Walstra et al., 2001).

El empleo de la MFT para la concentración de caseína es una alternativa interesante, ya que se podría disminuir la pérdida de proteína y aumentar el rendimiento de producción de queso. Además, el suero que se obtiene durante la MFT es más fácil de usar debido a que tiene una menor acidez (Amiot, 1991). La concentración de leche para hacer queso puede por lo tanto ahorrar insumos. Además se sabe que la formación de la cuajada en la leche concentrada es más rápida que con leche sin concentrar (Scott et al., 2002).

Por esta razón, se investigó la influencia de las condiciones de procesamiento en la concentración de leche por MFT, y la influencia del uso de leche concentrada en la elaboración de queso fresco.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

Se utilizó leche entera comprada en la hacienda San Jacinto ubicada en el sector de Tambillo. La leche se transportó en refrigeración hasta la recepción en el laboratorio.

Con la recepción de la leche se procedió a tomar una muestra homogénea representativa (500 ml) para análisis de calidad, mediante pruebas como: densidad, acidez, grasa y reductasa.

Para la concentración de la leche se trabajó con leche entera y leche semidescremada.

En las pruebas que se utilizó leche entera, se procedió a pasteurizarla a 63°C durante 30 minutos, se enfrió hasta 20°C, se pesó y se trató en el equipo de MFT.

Para las pruebas con leche semidescremada, se descremó una cantidad de leche hasta 0,2% de grasa utilizando una centrífuga marca Westfalia a 12000 r.p.m. Luego se estandarizó mezclando leche entera y leche descremada en la proporción adecuada, para obtener la concentración de materia grasa deseada. Finalmente se pasteurizó a las condiciones que se indicaron anteriormente (figura 1).



Figura 1. Preparación de materia prima para el proceso de MFT con leche semidescremada

Concentración de la leche

La microfiltración se realizó en un piloto de la sociedad TIA, equipado con una membrana cerámica MEMBRALOX (soporte de a-albúmina de estructura macroporosa) de 0,1 μm o 0,2 μm de diámetro de poro, y con una superficie de 0,2 m^2 . El proceso se realizó usando una velocidad tangencial de 5 m/s y temperatura de 20 °C. Se usó leche con contenidos de materia grasa entre 0,2% y 3,2%, que se concentró hasta FRV de 2, 3 y 4. El equipo se operó tanto en modo concentración (sin recirculación de permeado) como en modo recirculación. En el modo concentración se utilizó una presión constante de 2,5 bar, mientras que en modo recirculación se usó presiones entre 1 y 4 bares. El proceso se caracterizó mediante el flujo del permeado, los coeficientes de retención de grasa y proteína, y las propiedades de las fracciones obtenidas.

Elaboración de queso fresco

Se realizó de acuerdo al proceso indicado en Dubach (1988). La elaboración de queso con leche pre-concentrada fue más corto debido a que se elimina algunos pasos. Esto se debe básicamente a la diferencia que existe entre el coágulo formado con la leche pre-concentrada. Los pasos que se eliminaron son los siguientes: primer reposo, primer desuerado, lavado, segundo reposo y segundo desuerado, es decir, que luego del corte de la cuajada se pasó directamente al moldeo. La eficiencia del proceso se evaluó mediante el rendimiento de producción, el contenido de humedad, grasa, proteína y análisis sensoriales.

Secado del lactosuero

Con el lactosuero obtenido en la MFT se realizaron pruebas de secado por atomización. En el secado, la temperatura de

entrada del aire se mantuvo constante (180°C), se varió la concentración de sólidos totales del suero (mediante una preconcentración térmica) y la velocidad del rotor. Luego se realizaron pruebas de solubilidad, granulometría, acidez, humedad y análisis proximal.

Métodos de análisis

La densidad se midió usando un lactodensímetro. La solubilidad del suero en polvo se determinó siguiendo el método indicado en ERFLC (2006). La prueba de la reductasa se realizó según lo indicado por Dubach (1988), la acidez se determinó por titulación (AOAC, 2000). Para grasa se utilizó el método de Gerber (Dubach, 1988). El análisis proximal de humedad, cenizas, grasa y proteína se realizó utilizando los métodos de la AOAC (2000): 927.05 (33.5.02) - 934.01 (4.1.03), 930.30 (33.5.05), 932.06 (33.5.08), 930.29 (33.5.03) - 991.20 (33.2.11) respectivamente. Se realizaron análisis sensoriales triangulares para determinar si existe diferencia entre los quesos preparados con leche concentrada y sin concentrar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Microfiltración de la leche

En la figura 1 se observa la variación del flujo de permeado con membranas de 0,1 y 0,2 µm. El análisis estadístico mostró que no existe diferencia significativa (p=0,4390) del flujo con las dos membranas. Sin embargo, según los análisis químicos, se encontró que la membrana de 0,1 µm permite una mayor retención de proteína, por lo que para las siguientes pruebas se usó la membrana de 0,1 µm.

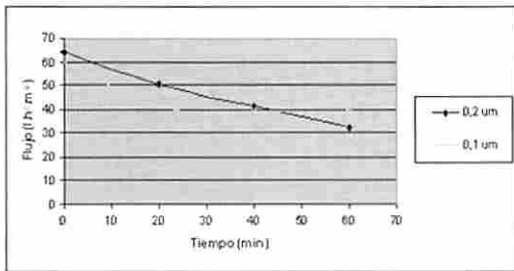


Figura 1. Influencia del tamaño de poro de la membrana en el flujo (P=2,5 bar, T= 20°C, FRV alcanzado = 3, modo concentración)

En cuanto a la influencia del contenido de grasa sobre el flujo del permeado (figura 2.), se encontró que el flujo es inversamente proporcional a la concentración de grasa. Sin embargo, el análisis estadístico indica que no existe diferencia en el flujo (p=0,2841) cuando se trabaja con leche entre 0,2 a 3,2% de grasa. El uso de una baja concentración de materia grasa es recomendable, ya que la retención de la grasa es de 100%, y se puede llegar a la concentración requerida para la elaboración de quesos durante la MFT. Además, el retirar parcialmente la materia grasa representaría también una ventaja económica.

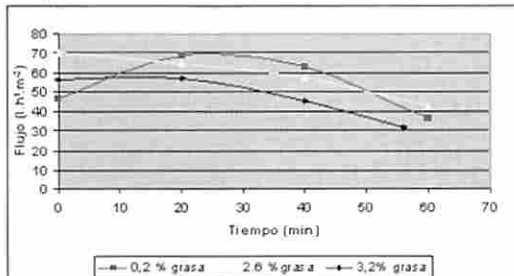


Figura 2. Influencia de la materia grasa de la leche en el flujo de permeado (P= 2,5 bar, T= 20°C, FRV alcanzado = 3, modo concentración)

En las figuras 3 y 4 se presenta la influencia de la presión sobre el flujo de permeado. Se encuentra que el flujo obtenido utilizando leche con un menor contenido graso (0,2 y 2,6%) tiene una relación directa con la presión, es decir, a mayor presión mayor flujo. Sin embargo, para un contenido de materia grasa de 3,2% y a partir de 1,5 bar el flujo disminuye

con el incremento de presión, fenómeno que se presenta debido a la colmatación (Huisman, 1998).

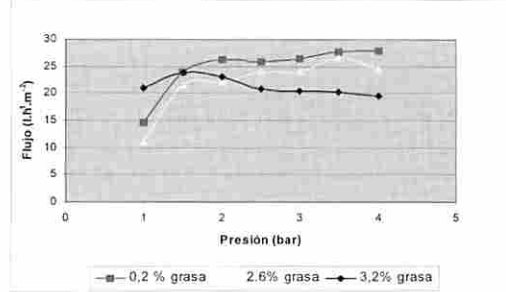


Figura 3. Influencia de la presión y la grasa en el flujo de permeado (T= 20°C, FRV= 3, modo recirculación)

En la figura 4 se puede observar la influencia del FRV. Como las pruebas se realizaron de modo que la concentración de grasa sea constante, el FRV está directamente relacionado a la concentración de proteína. Se observa que con FRV 2 el flujo aumenta conforme se incrementa la presión, pero a FRV superiores el flujo disminuye con el incremento de la presión, igualmente debido al colmataje. El análisis estadístico indica que existen diferencias significativas (p=0,0281) entre FRV 2 y 4.

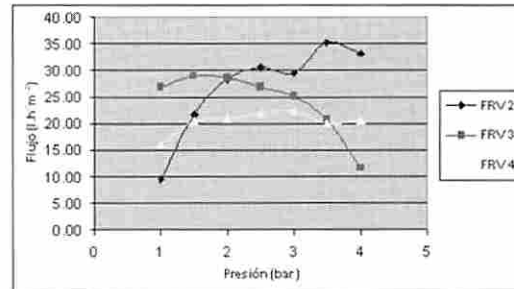


Figura 4. Influencia del factor de retención volumétrica y la presión en el flujo de permeado (3,2% grasa, T= 20°C, concentración de proteína variable, modo recirculación)

En cuanto a las propiedades de la leche concentrada, se encontró que la densidad aumenta con la concentración y que existe influencia del contenido de grasa. Así, las leches con un mayor porcentaje de grasa tienen valores menores de densidad (figura 5). La densidad del permeado fue siempre constante.

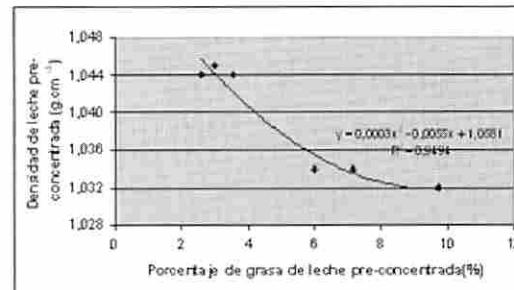


Figura 5. Variación de la densidad de acuerdo al porcentaje de grasa en la leche pre-concentrada

La concentración de grasa en el permeado fue siempre de 0%. Además, para todos los casos el coeficiente de retención de grasa es 100 %, es decir, que la grasa no logra pasar a través de la membrana.

Se observó también que el porcentaje de proteína aumenta luego del proceso de MFT. Se encontró que el coeficiente de retención de la proteína con la membrana 0,1 µm para FRV 3 es 94 % y para FRV 4 es 95,8 %, pero el coeficiente de retención de la proteína utilizando la membrana 0,2 µm es menor (90,08 %).

Elaboración de queso fresco

El uso de leche concentrada produjo ciertos cambios en el proceso, así: el tiempo de coagulación se redujo de 30 a 15 minutos; para reducir pérdidas de caseína se aumentó la

cantidad de CaCl_2 proporcionalmente al FRV alcanzado; debido a que la cuajada obtenida fue más dura, estable y con poca presencia de suero, no se hizo lavado de la misma.

Al evaluar el rendimiento del proceso, se encontró que los mayores rendimientos se obtienen cuando se trabaja con leche concentrada con un contenido alto de materia grasa (figura 6), pero a partir de 6% de grasa no se tiene incremento del rendimiento, seguramente por pérdidas en el suero. Se encontró también que con el 6% de grasa, el rendimiento es similar al obtenido con leche sin concentración ($p=0,7040$).

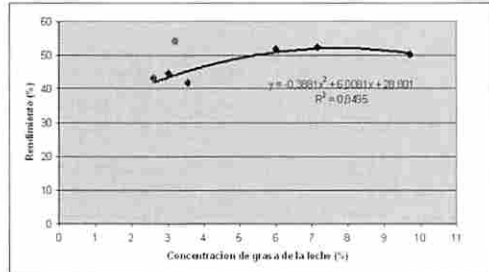


Figura 6. Influencia del porcentaje de grasa de la leche pre-concentrada en el rendimiento del queso

Al mantener constante la concentración de grasa y aumentar el FRV, y por consiguiente la cantidad de proteína, el rendimiento no aumenta como se esperaría. Esto puede deberse a que el rendimiento también está influenciado por la grasa, y durante la MFT la grasa se separa parcialmente y se elimina en el suero de la fabricación del queso.

El contenido de grasa en el queso también depende del contenido de grasa de la leche concentrada, y se encontró que con leche al 6% el contenido es similar al queso fabricado con leche sin concentrar. El contenido de grasa del queso influyó también en su humedad: a mayor contenido de grasa menor humedad. En cuanto al contenido de proteína se encontró que no existe diferencia significativa con los quesos elaborados con leche sin concentrar. Finalmente, un análisis sensorial demostró que los quesos de leche concentrada y sin concentrar no tienen diferencias significativas en cuanto a color, apariencia, sabor, olor y dureza.

Secado del lactosuero

Se observó que al secar un suero preconcentrado al 40%, se tienen problemas de formación de depósitos en el atomizador. Estos problemas no se observaron cuando se utilizó un suero preconcentrado a 30%.

Al realizar las pruebas de tamaño de partícula, solubilidad y humedad del suero en polvo, se encontró que estas propiedades no fueron afectadas ni por la concentración de sólidos (30%-40%) ni la velocidad del rotor (25000 - 31000 rpm). La humedad del suero en polvo fue siempre inferior al 5%.

CONCLUSIONES

Para concentrar la leche usando MFT, el uso de la membrana de $0,1\mu\text{m}$ es el más apropiado. En efecto, esta membrana retiene toda la grasa y hasta 95% de la proteína. El contenido de grasa y proteína de la leche tienen influencia en el flujo de permeado, los mayores flujos se obtienen cuando las concentraciones son bajas, sin embargo la variación no es significativa en el rango estudiado.

Con respecto a la elaboración de queso fresco, se observó que el rendimiento de fabricación aumenta con la concentración de materia grasa en la leche concentrada. El contenido de grasa en la leche también influye en el contenido de grasa en el queso. Así, a partir de 6% de grasa en la leche concentrada, el rendimiento de fabricación y el contenido de grasa es similar al que se obtiene cuando se emplea leche sin concentración. Además, los quesos obtenidos a partir de leche concentrada y sin concentrar tienen características organolépticas similares.

La utilización de leche pre-concentrada no incrementó el rendimiento en la elaboración del queso, pero permitiría un ahorro de insumos (cuajo), disminuir el tiempo de formación de la cuajada, y obtener un suero dulce que facilita su aprovechamiento y secado.

AGRADECIMIENTO

Al proyecto SENACYT PIC-089 por el financiamiento para la realización de este trabajo, y a DANEC por su ayuda con las materias grasas.

REFERENCIAS

- Amiot, J. 1991. "Ciencia y Tecnología de la Leche". Ed. Acribia S.A., España, pp.: 1-45, 249-252.
- A.O.A.C (Association of Official Analytical Chemist). 2000. Official Methods of Analysis. 17th edición.
- Dubach, J. 1988. "El ABC para la Quesería Rural de los Andes". Segunda Edición, Ecuador, pp.: 2, 80-82
- ERFCL. 2006. Manual de Métodos de Análisis Químicos. Equipo Regional de Fomento y Capacitación en Lechería para América Latina.
- Huisman, I. 1998. "Crossflow microfiltration of particle suspensions. The influence of Hydrodynamics and Phyco-Chemical Interactions". Department of food Engineering Lund University. pp.:15-21.
- Luquet, F.M. 1993. Los productos lácteos transformación y tecnología. Ed. Acribia S.A., pp.: 291, 295-296.
- Scott, R., Robinson, R.K. y Wilbey R.A. 2002. "Fabricación de queso". Ed. Acribia S.A., España, pp. 355.
- Walstra, P., Geurtsnt, J., Noomen, A., Jellema, A., y Van Boekel M.A. 2001. "Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos". Ed. Acribia S.A., pp.: 4.

EVALUACIÓN DE MEZCLAS DE HARINA DE TRIGO (*Triticum spp.*) Y TRITICALE (*Triticosecale wittmack*) PARA ELABORAR PAN DE MIGAJÓN.

Arámbula-Villa Gerónimo¹, López-Pérez Angelita², Mendoza-Elos Mariano², Gutiérrez-Arias Edmundo¹ y Arámbula-Peña Ana Laura³.

¹Centro de investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N. Unidad Querétaro. Libramiento Norponiente # 2000. Fracc.Real de Juriquilla, 76116, Querétaro, Qro. México.

²Instituto Tecnológico Agropecuario de Roque. Celaya, Gto. México.

³Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey. Campus Querétaro. México.

Palabras clave: procesamiento de alimentos y de subproductos, uso del triticale para elaborar pan.

RESUMEN

El triticale es un cereal utilizado principalmente para la alimentación animal y muy poco se ha investigado para su utilización como alimento humano. Entre los posibles productos alimenticios donde se puede utilizar este cereal, está el pan. El grano de triticale contiene alrededor del 78% de carbohidratos, principalmente almidón. Este compuesto es, en gran medida, el que proporciona al pan todas sus propiedades. Durante el almacenamiento la estructura de la miga del pan cambia, se torna firme, pierde su elasticidad y se endurece por efectos de la retrogradación del almidón. En este trabajo se elaboraron piezas de pan utilizando mezclas de harinas de trigo comercial, y triticale de una variedad desarrollada en México (Instituto Tecnológico, Roque, Celaya, Gto.), en las siguientes proporciones: 100/0, 70/30, 60/40, 50/50 y 0/100 (p/p). También se evaluaron tres tiempos de almacenamiento del pan elaborado: 0, 24 y 48h a temperatura ambiente. Se determinaron las características físicas, fisicoquímicas, reológicas y estructurales del grano y la harina de los dos cereales. Al pan producido se le determinó el perfil de textura, el color, temperatura de gelatinización, y la viscosidad máxima de gelatinización y de retrogradación, la cristalinidad y morfología. Los resultados se analizaron mediante comparación múltiple de medias de Duncan. Todas las propiedades del pan fueron afectadas por las diferencias en las proporciones harina de trigo/harina de triticale evaluadas, y por los tiempos de almacenamiento probados. De acuerdo a los resultados se puede concluir que es factible utilizar hasta un 40% de harina de triticale para producir pan, y la calidad que se obtiene es similar a la del pan elaborado con solo harina de trigo.

INTRODUCCIÓN

La riqueza nutritiva hace del triticale un producto de gran interés para la alimentación humana. Dada su composición química y sus características generales, este cereal puede ser utilizado para elaborar pan con la harina producida, o bien, con mezclas con harina de trigo. En investigaciones previas, se ha reportado que las masas de harina de triticale son menos fluidas, cohesivas y manejables, además las características de color, sabor, olor y textura del pan producido resulta poco adecuado para su consumo (Royo, 1992). Desde el punto de vista nutricional, la calidad del triticale es semejante a la que presenta el trigo, y en algunos aspectos es superior ya que el contenido de lisina del grano, es mayor (Bernardo et al., 1990). Además, el grano de triticale es especialmente alto en fibra, proteína, y su contenido de tiamina y minerales es alto también (Bernardo et al., 1990).

Tradicionalmente, para los productos de panificación, el trigo ha sido el de mayor utilización, pero cereales como el triticale, por ser una fuente similar en composición al trigo, puede ser utilizado en forma sustitutiva o complementaria para este tipo de productos. Tratando de aprovechar lo anterior mencionado, en este trabajo se caracterizó la harina de grano de triticale, se elaboró pan combinando harina de trigo/harina de triticale en diferentes proporciones, y se evaluaron sus propiedades a diferentes tiempos de almacenamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó grano de triticale de una nueva variedad desarrollada en México (Instituto Tecnológico de Roque, Celaya, Gto.), y harina de trigo comercial adquirida en la Cd. de Querétaro, Qro. México.

Producción de harina de triticale. El grano se molió (molino de martillos, malla 0.5mm), hasta alcanzar un tamaño medio de partícula similar a la harina de trigo comercial.

Caracterización de las harinas. Para las harinas se determinó: tamaño medio de partícula, color, humedad (AACC, 1983), Índice de absorción y de solubilidad en agua (Anderson et al., 1969) y perfil de viscosidad amilográfica.

Elaboración del pan. Para todos los tratamientos se utilizó la siguiente mezcla: 500g de harina, 10g de levadura, 25g de azúcar, 5g de sal, 2.5g de purato y 300ml de agua. El amasado se hizo en una batidora KitchenAid, a velocidad media durante 5min. La masa se presó y moldeó, se dejó reposar durante 30min y se coció en un horno para pan a 220°C por 18min.

Propiedades del pan. La adhesión y cohesión de la masa así como el Análisis del Perfil de Textura (TPA) del pan se obtuvieron con el Texture Analyzer XT2, utilizando el método recomendado por Arámbula et al., (2002), y la técnica para pan fresco recomendado por el mismo fabricante del equipo. La humedad, color y perfil de viscosidad amilográfica se determinaron de la misma forma que para las harinas. La morfología de los panes se determinó con un microscopio electrónico de barrido ambiental (ESEM, Phillips mod 3).

Diseño experimental. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial. Las variables independientes fueron: mezcla de harina (trigo comercial/ triticale): 100/0, 70/30, 60/40, 50/50 y 0/100, y tiempo de almacenamiento: 0, 24 y 48h. La selección de los mejores tratamientos se hizo comparando las características de textura del pan. Como patrón de referencia se utilizó pan elaborado de solo trigo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La harina de triticale presentó un valor de ΔE mayor (14.024) que la de trigo (9.604), debido a que durante la molienda, una parte de la cascarrilla del grano de triticale no pudo ser removida lo que le confirió coloración.

El índice de absorción del agua fue mayor en la harina de triticale (2.608 vs. 2.182g/gel) que en la harina de trigo comercial. En el caso del índice de solubilidad en agua, no se encontraron diferencias significativas entre las harinas.

Respecto a las temperaturas y viscosidad de gelatinización resultaron sin diferencias significativas entre las harinas evaluadas. Tanto la fuerza de cohesión, así como la de adhesión no presentaron diferencias significativas entre las masa de las harinas procesadas.

En general, todas las piezas de pan presentaron buena calidad visual. El pan producido con mezclas de harina de trigo/triticale 70/30 y 60/40 presentaron los valores de ΔE más altos (color menos blanco), y significativamente diferentes al resto de los tratamientos (Cuadro 1). Esto se debe a que la harina de triticale, desde el inicio, presentó un color más oscuro que la de trigo.

Cuadro 1. Características fisicoquímicas de pan de mezclas de harina de trigo/triticale con diferentes tiempos de almacenamiento.

Harina de trigo/triticale (%)	ΔE^1	Humedad (% p/p)
100/0	43.38c	34.02c
70/30	49.05a	34.32bc
60/40	50.18a	35.53a
50/50	45.01b	35.01ab
0/100	45.94b	31.90d
Tiempo de almacenamiento (h)		
0	42.54b	34.32a
24	48.43a	34.35a
48	49.17a	34.32a

Medias con la misma letra, en la misma columna, dentro del mismo grupo no tienen diferencias significativas (Duncan, $p=0.05$).

¹ ΔE = diferencia total de color.

Con relación al tiempo de almacenamiento, al aumentar éste, todos los tratamientos cambiaron a un color menos blancos (valores más altos). Solo presentaron diferencias significativas los tratamientos con 0h respecto al resto de los evaluados.

Respecto a la humedad (Cuadro 1), el tratamiento 60/40 fue el que presentó mayor valor, y diferencias significativas con el resto de los

tratamientos. La harina de trigo inicialmente aceptó menor cantidad de agua (menor valor de índice de absorción en agua), y después de elaborado, el pan tampoco la conservó, por lo que resultó más deshidratado que el resto de los panes elaborados con mezclas. Todos los tratamientos no presentaron diferencias significativas respecto al tiempo de almacenamiento.

La elasticidad (Cuadro 2) de los tratamientos 70/30, 60/40, 50/50 y 0/100, no presentaron diferencias significativas entre ellos, solamente con respecto a los panes del tratamiento 100/0. La harina de trigo comercial, desde masa, desarrolló mayor viscosidad que la de triticale, además conservó mayor humedad después del horneado, lo que hizo que el pan resultara con mayor elasticidad (tratamiento 100/0). Pero, aunque los tratamientos presentaron diferencias, todos tuvieron la capacidad de recuperar, casi en su totalidad, la forma y extensión después que se aplicó la fuerza de deformación durante la prueba, lo que los hizo aceptables para el consumidor.

Cuadro 2. Perfil de textura de pan elaborado con harina de trigo/triticale con diferentes tiempos de almacenamiento.

Harina de trigo/triticale (%)	Elasticidad	Cohesividad	Masticabilidad (g)	Gomosidad (g)	Dureza (g)
100/0	634.3a	596.0a	140.2b	311.0a	185.1b
70/30	569.5b	610.9a	80.4c	147.0a	216.50b
60/40	572.2b	618.6a	73.6c	128.5a	239.82b
50/50	586.6ab	603.3a	132.3b	203.1a	363.80a
0/100	561.7b	581.5a	212.5a	264.9a	426.99a
Tiempo de almacenamiento (h)					
0	567.5a	662.8a	92.09b	111.46b	205.00b
24	573.7a	630.6a	90.85b	139.75b	229.30b
48	607.7a	540.5b	182.05a	333.60a	386.05a

Medias con la misma letra, en la misma columna, dentro del mismo grupo, no tienen diferencias significativas (Duncan, $p = 0.05$).

Respecto al tiempo de almacenamiento, los tratamientos no presentaron diferencias significativas. La cohesividad y gomosidad de todos los tratamientos no presentaron diferencias. Al aumentar el tiempo de almacenamiento los valores de esta variable disminuyeron en promedio, aunque solamente el tratamiento con 48h de almacenamiento presentó diferencias significativas, comparado con el resto de los evaluados.

Los mejores valores de masticabilidad (valores pequeños), los presentaron los tratamientos 60/40 y 70/30, respectivamente.

Al aumentar el contenido de harina de triticale, la dureza de los panes se incrementó. La harina de triticale fue una harina dura que presentó una menor capacidad e índice de absorción de agua, y después de procesada y transformada en pan presentó baja humedad, lo que provocó que presentara mayor dureza. Respecto al tiempo, la dureza aumentó, aunque solo a las 48h se registraron diferencias significativas. Esto se debe a que durante el almacenamiento, los fenómenos de deshidratación y retrogradación se hacen presentes y producen un endurecimiento de la miga del pan.

En las microfotografías de harina de triticale y trigo comercial (Fig.1), se observaron dos tipos de estructuras redondeadas, que corresponden a los gránulos de almidón y el resto que componen la matriz proteica y demás componentes químicos del grano.

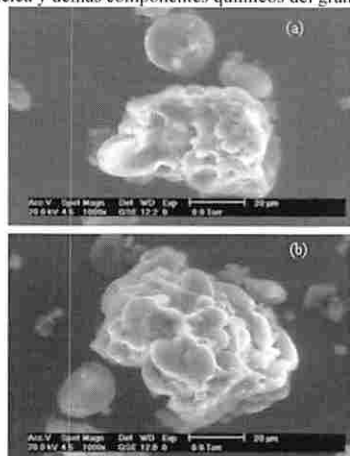


Figura 1. Harina de trigo comercial (a) y de triticale (b). La Figura 2 muestra la estructura de la miga del pan producido con mezclas de harina de trigo/triticale, recién elaborado.

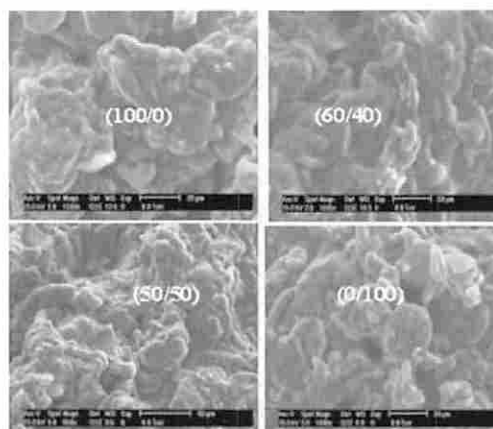


Figura 2. Estructura de la miga del pan producido con mezclas de harina de trigo/triticale, recién elaborado.

El pan presentó dos tipos de estructuras, unas redondas-semiesféricas o aplanadas de alrededor de 20µm de diámetro y menores, que probablemente correspondan a gránulos de almidón que conservan su estructura después de procesado el pan, y otras formas amorfas y continuas, que corresponden a una matriz continua, constituida con el resto de los componentes que se adicionaron para la elaboración del pan.

Morfología de pan, similar, fue reportada por (Ramón, 2005) en un estudio sobre pan elaborado con diferentes porcentajes de sustitución de almidón modificado de yuca y camote.

El mejor tratamiento de pan elaborado con harina de trigo/triticale, en base a todas las propiedades evaluadas, y que presentó las mejores características fue el elaborado con 60/40, harina de trigo/harina de triticale.

En forma resumida, en el Cuadro 3 se muestran las características del pan producido, y que fue considerado como el de mejor calidad, elaborado con mezcla de 60/40 harina de trigo y triticale.

Cuadro 3 Características generales del pan producido con mezclas de harina de trigo/triticale (60/40), recién elaborado.

Parámetro	Valor promedio
ΔE	48.1
Humedad (%)	34.6
Elasticidad	571.0
Cohesividad	695.0
Masticabilidad (g)	78.5
Gomosidad (g)	132.5
Dureza (g)	191.0
Temperatura Inicial de gelatinización (°C)	58.3
Temperatura de gelatinización (°C)	80.2
Temperatura final de gelatinización (°C)	50.2
Viscosidad máxima (cP)	602.1
Viscosidad de retrogradación (cP)	186.1

Valores promedio de al menos tres repeticiones.

CONCLUSIONES

El aumento de la proporción de harina de triticale, durante la elaboración de pan, afectó las características fisicoquímicas, estructurales, reológicas y de textura del producto obtenido. Los principales cambios en color y textura de los panes se presentaron durante las primeras 24h después de elaborado. Después de este tiempo se conservaron todas sus propiedades. Los panes que presentaron las mejores características de calidad fueron los elaborados con 60/40 harina de trigo comercial/harina de triticale. Por lo anterior concluimos que es factible sustituir hasta el 40% (p/p) de la harina de trigo por harina de triticale, y las características del pan serán similares o mejores que las obtenidas para pan tradicional elaborado con solo harina de trigo.

REFERENCIAS

AACC. 1983. Approved methods of the american association of cereal chemist. St. Paul.MN.
 Anderson, R.A., Conway, H.F., Pfeifer, V.F., Griffin Jr. 1969. Gelatinization of corn grits by roll and extrusion-cooking. Cereal Science Today: Vol. 14: 4-12.
 Arámbula, V.G., González, H.J., Moreno, M.E. and Ordorica, F.C.A. 2002. Characteristics of tortillas prepared from dry extruded masa flour added with maize pericarp. Journal of Food Science: 67 (4) 1444-1448.
 Bernardo, A., Jouve, N. and Soler, C.1990. El triticale: un cereal de origen citogenético. Ministerio de agricultura, pesca y alimentación. Colección monografías INIA, 70. Madrid.
 Ramón, A.S.O. 2005. Características fisicoquímicas y de textura del pan de migajón adicionando almidones entrecruzados de yuca y camote. Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Tuxtepec. Tuxtepec, Oax., México. p:67-74.
 Royo, C., 1992. El triticale base para el cultivo y aprovechamiento. Editorial mundi-prensa p:18.

EXTRACCIÓN DE UNA OLEORRESINA ABUNDANTE EN CAROTENOIDES DE CHILE DE ÁRBOL (*Capsicum annuum*)

autista Pérez Simeón, Martínez González José Luis, Barranco Jiménez Rosita, Bautista Cano Perla del Carmen, Juárez Goiz Mayolo, Ramírez Estrada Serafin, Quintana Rodríguez Elizabeth, Arellano Alcantara Sandra, Villaseñor Ortega Francisco, Departamento de Ingeniería Bioquímica, Instituto Tecnológico de Celaya, Av. Tecnológico s/n, C.P.38010. Celaya, Gto., México. Tel.: (461) 6117575 Ext. 322 y 209. E. mail bautista@itc.mx

Palabras clave: Carotenoides, oleorresina, extracción.

RESUMEN

El propósito del presente trabajo fue obtener una oleorresina con alto contenido de carotenoides. Para lograr esto se incorporó una extracción adicional, a lo que es la tecnología tradicional, para la eliminación del material pungente de la harina de chile. Se propone para la eliminación de los Capsaicinoides sin extraer a los Carotenoides un pretratamiento a la harina de chile de árbol, consistente en una extracción sólido - líquido, dejando una harina agotada de material pungente, pero con un alto contenido de carotenoides; y por otra parte se obtiene un licor con una elevada concentración de capsaicinoides.

En la primera extracción se emplearon muestras de 15, 20 y 25 g de harina de chile de árbol con una mezcla de disolventes acetona-metanol (80:20 v/v), una relación de harina-disolvente 1:12.5 (p/p) en un rango de temperatura de 20, 25 y 35 °C durante un tiempo de extracción de 10, 15 y 20 min. La harina obtenida de esta primera extracción tiene una retención de colorantes del 90 %. Dicha harina se sometió a una segunda extracción sólido-líquido utilizando muestras de 15, 20, 25 g., utilizando hexano como disolvente, en una relación harina-disolvente 1:15, en un rango de temperatura de 20, 25 y 30 °C durante un tiempo de extracción de 2, 4 y 6 horas. Se utilizó el diseño de experimentos de Taguchi (Escamilla, 1992), donde todos los ensayos fueron por triplicado y se cuantificaron capsaicinoides y carotenoides en ambas etapas, como referencia para determinar rendimiento en cada una de las etapas.

INTRODUCCIÓN

El color en los alimentos es un factor importante que determina su aceptación, por lo que se busca dentro de la industria de los alimentos, encontrar colorantes que brinden este parámetro de calidad. Sin embargo, el uso de colorantes sintéticos ocasiona problemas en la salud, por lo que se han buscado alternativas para sustituirlos por productos naturales, tal como los carotenoides presentes en el fruto del chile (García, 2005).

Los carotenoides constituyen uno de los grupos más importantes de pigmentos naturales, responsables de los colores de muchas frutas (Goodwin, 1980).

Muchos extractos concentrados de carotenoides son también utilizados en la industria de los alimentos, por ser pigmentos inocuos y de fácil metabolismo.

La mayoría de los frutos de *Capsicum* presentan carotenoides. Las concentraciones de colorantes varían entre variedades y etapa de maduración del fruto teniendo 0.69 mg/kg fresco, en variedad blanca, hasta 10 mg/kg en verdes y entre 127 a 1600 mg/kg en las variedades rojas (Govindarajan, 1986).

Los carotenoides más abundantes en frutos de *Capsicum* capsantina, antaxantina, β -caroteno, capsorubina, violaxantina y zeaxantina (Arjona y col, 2003).

Recientemente se están introduciendo formas líquidas de colorantes de alta potencia con una amplia aplicación industrial en términos de desempeño y facilidad de uso. Desde 1969 se han propuesto extracciones industriales de oleorresina de pimentón, con rendimientos de 7.8% en oleorresina, con 101000 unidades de color y pigmentos de 66.2 g/kg (Loaiza, 2001).

MATERIALES Y METODOS

Materiales.

Se utilizaron frutos del chile de árbol (*Capsicum annuum*). Como disolventes se usaron para la primera extracción acetona y metanol. Para la segunda extracción se utilizó hexano como disolvente.

Métodos

Acondicionamiento de la materia prima.

Constituye un proceso de importancia, debido a que todo deterioro ocasionado sobre la materia prima produce una pérdida irreversible sobre las etapas siguientes ya sea en calidad o productividad. El chile triturado sin semilla y sin pata, fue sometido a una molienda, en un molino de discos, para obtener un tamaño de partícula óptimo para el proceso de extracción, el cual es aproximadamente de 595 μ m. Después se tamizó para obtener finalmente, la harina que entra al proceso de extracción.

Extracción

En la primera extracción se emplearon muestras de 15, 20 y 25 g. con una mezcla de disolventes acetona- metanol (80:20 v/v), una relación de harina- disolvente de 1:12.5 (p/p) en un periodo de tiempo de 10, 15 y 20 min.

Las mejores condiciones de operación se obtuvieron utilizando la metodología Taguchi, realizando 9 corridas por triplicado. En cada uno de los 27 ensayos se determinó tanto a la harina como a la oleorresina, contenido de carotenoides, capsaicinoides, humedad, densidad y rendimiento

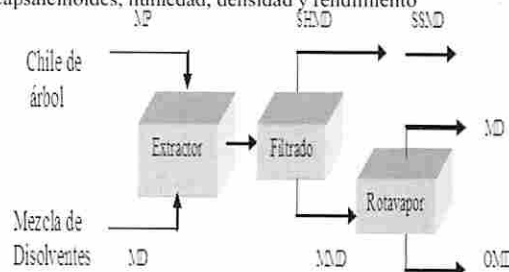


Figura 1. Esquemización de la primera etapa de extracción

Con los datos obtenidos, se realizaron una prueba confirmativa por duplicado y determinando la cantidad de color y material pungente en la harina.

Para determinar las mejores condiciones de operación se tomaron dos criterios de selección:

A: Concentración elevada de carotenoides en harina

B: Concentración máxima de capsaicinoides en oleorresina.

Una vez obtenidas las mejores condiciones, para la separación de los Capsaicinoides (obtenidos en un licor ó micela) y obtención de una harina con alta concentración de carotenoides, pero agotada con respecto a Capsaicinoides; se prosiguió a realizar una segunda extracción con la finalidad de obtener la oleorresina concentrada en carotenoides; para la realización de esta extracción se tomaron las condiciones de operación propuestas por Rico-Martínez (2000); las cuales fueron: Relación Harina - Disolvente 1:30, Tiempo de Extracción de 6 horas, Temperatura de Extracción igual a Temperatura ambiente y Hexano como Disolvente. Se realizaron 3 corridas experimentales cambiando el factor Relación Harina - Disolvente, para lo cual en la primera corrida se utilizó Relación Harina - Disolvente 1:10, 1:20 en la segunda y 1:30 en la tercer corrida experimental. Se considera que un factor muy importante para la extracción de carotenoides es la Relación Harina - Disolvente.

Una vez establecida esta tecnología a nivel laboratorio, se efectuó un escalamiento a nivel Planta Piloto, con la finalidad de observar si el proceso seguía un comportamiento similar. Para la realización del escalamiento, se realizaron 3 corridas

experimentales utilizando 3kg de harina de chile seco, utilizando hexano como disolvente, una temperatura igual a temperatura ambiente, un tiempo de extracción de 6 horas y una relación harina - disolvente de 1:20 (p/p).

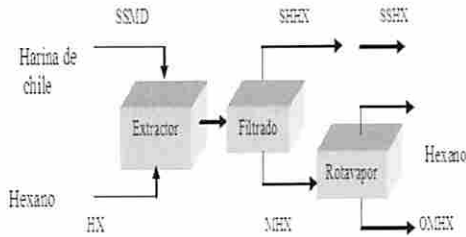


Figura 2. Segundo proceso de extracción.

Durante los procesos de extracción se tomaron muestras de micela de 100ml, durante la primera hora de extracción se tomaron muestras cada 15 minutos; después de la primera hora las muestras fueron tomadas cada hora, esto se hizo para determinar cómo varía la extracción de carotenoides y rendimiento de oleoresina con respecto al tiempo. Se llevó a cabo un análisis del comportamiento de la oleoresina en un rango de temperaturas de 30 a 90°C para observar su estabilidad, realizando determinación de carotenoides en un periodo de tiempo.



Figura 3. Diagrama de bloques para la obtención de una oleoresina con alto contenido de carotenoides y libre de material pungente.

RESULTADOS

De la primera extracción las mejores condiciones de operación fueron 15 g de harina con un tiempo de extracción de 10 minutos con una temperatura de 25°C, con un rendimiento total de 0.71302 g/Kg -que corresponde al 5% de capsaicinoides en el licor.

En la segunda extracción el tiempo recomendado fue de 4 horas a una temperatura de 25°C, con un rendimiento total de 10.2015 g./ Kg. de carotenoides que corresponde al 11%.

Del estudio a nivel Planta Piloto se decidió que el mejor tiempo de extracción de oleoresina fue de 2 horas debido a que a en ese tiempo el rendimiento de la oleoresina y la concentración de carotenoides ya no variaba. Además durante los dos procesos de extracción se hicieron balances de materia, con respecto a harina de chile, es decir cantidad de chile, balances de materia con respecto al soluto de interés (Carotenoides) y también con respecto a Capsaicinoides. En la figura 2 se muestra el diagrama del proceso propuesto para la obtención de una oleoresina rica en carotenoides. En la tabla 1 se muestran algunos parametros comparados a nivel laboratorio y a nivel Planta Piloto.

Tabla 1 Resultados de la primera extracción.

Parámetros	A Nivel Laboratorio	A Nivel Planta Piloto
Carga de MP (g)	70	3000
Peso de SSMD	62 186	2775
Volumen de Micela MMD (ml)	319	14100
Peso de Oleoresina (g)	9 913	303 83
Rendimiento de Oleoresina	14 192	10 59
Capsaicinoides en MP (X)	4 2257	2 45376
Carotenoides en MP (Y)	4 5313	4 1866
Carotenoides en OMD (Y)	3 4258	2 8992
Capsaicinoides en OMD (X)	22	17 16
Carotenoides en SSMD (Y)	3 9912	3 4402

X (mg Capsaicinoides / g de Harina)
Y (g Carotenoides/ Kg de Harina)

Como podemos observar hubo algunos cambios considerables, por ejemplo, en el porcentaje de eliminación de Capsaicinoides se nota una diferencia de 21.71%, lo cual significa que la extracción a nivel Planta Piloto no era muy eficiente, y referimos esto porque a nivel laboratorio se trabajo con una agitación considerablemente buena comparada con la agitación brindada por el equipo utilizado a nivel Planta Piloto. De la misma manera, en la Segunda Extracción hubo diferencias significativas.

De acuerdo a los resultados, a temperaturas de 30 y 40°C con un tiempo de 30 minutos se tiene una degradación mínima mientras que de 60 a 300 min a la misma temperatura la degradación no cambia, a temperaturas de 50 a 90 °C hay una mayor degradación en un tiempo de 30 min, pero manteniéndose estable a tiempos de 60 a 300 min. Como se observa en la figura 4.

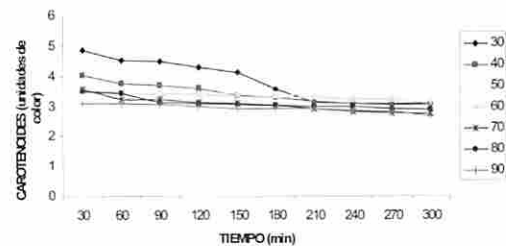


Figura 4. Comportamiento de los carotenoides en unidades de color a diferentes temperaturas.

CONCLUSIONES

En la primera extracción el tiempo de exposición para capsaicinoides es de 10 minutos, lo cual es una ventaja para evitar el arrastre de carotenoides. En la segunda extracción el tiempo recomendado fue de 4 horas en donde se obtuvo el 90% de los carotenoides expresados como capsantina. Para el proceso de escalamiento se observa que los rendimientos fueron menores debido a que el equipo utilizado presenta una menor eficiencia.

La oleoresina obtenida mediante el proceso propuesto puede ser sometida a un rango de temperaturas de 30 a 90°C con tiempos de calentamiento de 30 a 300 minutos sin que tenga degradación de color mayor; así pues puede utilizarse en productos alimenticios como cárnicos, lácteos y embutidos.

PERSPECTIVAS

Se pretende mejorar el proceso de extracción agregando una etapa previa, la cual consistirá en un pretratamiento enzimático a la harina de chile de árbol.

Así como una purificación y cristalización de los carotenoides obtenidos en la oleoresina para mejorar su vida de anaquel.

BIBLIOGRAFÍA

- Arjona y col, Contenido total de carotenoides en pimentón y oleoresina de la variedad *Capsicum annuum* l. Trompa de elefante, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales Universidad Nacional de Catamarca, 2003.
- Bautista Simeón, Alternativas Tecnológicas Viables de Utilización Industrial de Metabolitos Secundarios a partir del Chile Seco (Genero *Capsicum*), Instituto Tecnológico de Celaya, México 2000.
- Escamilla y col, Aplicación de la metodología Taguchi en la búsqueda de mejores rendimientos de la reacción de Friedel-Crafts para la obtención de cetonas aromáticas, Tecnología y Ciencia IMIQ, 1992.
- García, Leticia, Estabilidad de la oleoresina de color extraída del chile de árbol como aditivo para uso alimentario, Instituto Tecnológico de Celaya, México, 2005.
- Goodwin, The biochemistry of the carotenoids, segunda edición, 1980.
- Govindarajan, V.S, Capsicum. Production : Technology, Chemistry an Quality. Part I; History, Botany, Cultivation y Primary Processing. C.R.C. Crit. Rev. Food Nutr. 1984.
- Govindarajan, V.S., Capsicum — Production : Technology, Chemistry an Quality. Part II; Processed products, standars, world production y trade. C.R.C. Crit. Rev. Food Nutr. 1986.

- Loayza Indrid Capsicum y sus derivados en iberoamerica: subprograma IV –CYTED; Editor Ingrid Loayza, 2002.

- Olga Lock, Colorantes Naturales; Sing de Ugaz. Pontificia Universidad Catolica del Peru. Ed. 1997

-Norma ISO 7541:1989 (e), polvo de paprika: determinacion del contenido total de la materia colorante natural : método espectrométrico.

-Norma oficial mexicana NOM-119-SSA1-1994, bienes y servicios. materias primas para alimentos, productos de perfumeria y belleza. colorantes organicos naturales. especificaciones sanitarias

- Rico Elisa, Adaptación tecnológica a nivel laboratorio para la obtención de oleoresina a partir de chile guajillo (*Capsicum annuum*), Instituto Tecnológico de Celaya, México, 2000.

Abreviaturas

MP Materia prima

MD Mezcla de disolventes

OMD Oleoresina mezcla de disolventes

SHMD Sólido humedo de mezcla de disolventes.

SSMD Sólido seco mezcla de disolventes (harina con ligera concentración de capsaicinoides).

SSH Sólido seco de hexano

HX Hexano

MHX Mezcla de hexano

SHHX Sólido humedo de hexano

OMHX Oleoresina a partir de hexano (elevada concentración de carotenoides).

SECADO DE RODAJAS DE PIÑA (*Ananas comosus*) PREVIAMENTE DESHIDRATADAS EN SOLUCIONES OSMÓTICAS DE SACAROSA-AGUA-ETANOL

Aguilar-Paz, Selfa; Mendieta-Taboada, Oscar; Bardales, Clarissa; Medina-Vivanco, Mari

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTIN-TARAPOTO

FACULTAD DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

Jr. Maynas 179. E. mail: mariluz_mv@yahoo.es

TARAPOTO-SAN MARTIN-PERÚ

Palabras clave: cinéticas de secado, deshidratación osmótica, soluciones ternarias

RESUMEN

El presente trabajo tuvo por objetivo obtener rodajas de piña (*Ananas comosus*) secas de la variedad cayena lisa; utilizando procesos combinados de deshidratación osmótica y secado. Fueron utilizados como osmódeshidratantes sacarosa y etanol. Rodajas de Piña sin corazón de 1 cm de espesor, fueron sumergidas en soluciones osmóticas de diferentes concentraciones de agua-etanol-sacarosa durante 3 horas. En el secado fue estudiada la influencia de la concentración de las soluciones osmóticas (agua-etanol-sacarosa) y la temperatura de secado (40, 50 y 60 °C). Las cinéticas de secado mostraron que a medida que se incrementaron la concentración de sacarosa en la solución, para un mismo tiempo de secado, la humedad disminuyó, y al aumentar el etanol en la solución, la velocidad de secado aumentó. Mediante estos experimentos se determinó que no es recomendable secar a 40°C por ser este muy lento, perjudicando al producto. A 60°C, la velocidad de secado fue alta, sin embargo las rodajas de piña sin tratamiento osmótico y las que fueron deshidratadas en soluciones de agua-etanol-sacarosa (33-33-33) y (34-16-50) presentaron encostramiento y cristalización, estableciéndose que las rodajas de piña secadas a 50 °C y deshidratadas osmóticamente en soluciones de agua-sacarosa (50-50), (60-40) y agua-etanol-sacarosa (34-16-50), como las rodajas de piña sin tratamiento tuvieron alto grado de aceptabilidad, siendo las rodajas de piña deshidratadas con soluciones de agua-etanol las que tuvieron menor grado de aceptabilidad.

INTRODUCCIÓN

La piña (*Ananas comosus*) es una especie nativa de Sudamérica, de probable origen compartido del centro y sureste de Brasil, Noreste de Argentina y Paraguay y bordes Meridionales de la Amazonía. La piña ha sido desarrollada y domesticada desde tiempos prehistóricos, pertenece a la familia de las Bromeliáceas. Algunas de ellas, como es el caso de la piña tropical, producen enzimas proteolíticas, es decir, sustancias capaces de facilitar la digestión de las proteínas. Todas las especies de esta extensa familia se crían en la América tropical.

La deshidratación osmótica y la tecnología de métodos combinados para el procesado de frutas, hortalizas, pescado, productos cárnicos y en la producción de alimentos de humedad intermedia es muy utilizada como etapa previa al secado. Los agentes osmóticos de mayor utilización son: sacarosa, glucosa, sorbitol y NaCl. Estos han sido escogidos por ser inocuos; algunos por ser efectivos en la reducción de humedad y peso, ejemplo la sacarosa (Lerice *et al.*, 1985; Welti *et al.*, 1995), otros por ser buenos reductores de la actividad de agua, ejemplo NaCl (Medina-Vivanco, 1998). El uso de soluciones ternarias en la deshidratación osmótica permite aprovechar las ventajas de ambos solutos (Bohoun *et al.*, 1998 y Medina-Vivanco, 2002). Zapata y Castro (1999) estudiaron la cinética de la deshidratación osmótica de piña con alcohol etílico como osmódeshidratante, utilizando soluciones de 80 % de etanol, a temperatura ambiente (alrededor de 25°C), en soluciones estáticas.

El secado es una técnica que se viene aplicando desde tiempos remotos, existiendo un gran número de trabajos publicados. Teles *et al.* (2006) optimizaron la deshidratación osmótica de melón seguida de secado. Así mismo Sanjinez-Argandoña *et al.* (2005) indicaron que el tratamiento osmótico influyó en las propiedades del producto final, obteniéndose un producto de mejor calidad en términos sensoriales y de contenido de vitamina C.

Los objetivos del presente trabajo fueron: evaluar la influencia del pre-tratamiento osmótico, utilizando soluciones de agua-sacarosa, agua-etanol y agua-etanol-sacarosa, y la influencia de la temperatura en la cinética y velocidad de secado en piña deshidratada osmóticamente en las soluciones mencionadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Se empleó Piña (*Ananas comosus*) de la variedad cayena lisa, cosechadas en la provincia de Lamas, departamento de San Martín.

Agentes deshidratantes: Sacarosa y Etanol.

Metodología experimental: Rodajas de Piña sin corazón de 1 cm de espesor, con humedad, proteínas, grasa, cenizas, fibra y carbohidratos totales de: 87.67 %, 0.14 %, 0.12 %, 0.30 %, 0.39 % y 11.38 % respectivamente y con contenido de ácido ascórbico de 26.85 mg/100g fueron sumergidas en soluciones osmóticas de diferentes concentraciones de agua-etanol-sacarosa (Cuadro N°1) durante 3 horas; estas rodajas fueron secadas en tres temperaturas (40, 50 y 60 °C).

Cuadro 01: Concentraciones de las soluciones osmóticas

ensayo N°	Agua (%)	Etanol (%)	Sacarosa (%)
1	100	0	0
2	0	100	0
3	0	0	100
4	84	16	0
5	50	0	50
6	34	16	50
7	76	24	0
8	60	0	40
9	36	24	40
10	33	33	33

Para analizar el efecto de las soluciones osmóticas durante el secado se utilizó un diseño experimental de mezcla de tres componentes de acuerdo con el cuadro N° 01

Este diseño experimental fue utilizado para las tres temperaturas de secado. El programa Statistica 5.0 Copyright© StatSoft, Inc (1995) se usó para el análisis del diseño experimental y para establecer las superficies de respuestas con un nivel de significancia de 95%.

*El contenido de azúcar fue determinado por el método del DNS, recomendado por Ranganna (1979); el contenido de etanol por el método del dicromato, que se basa en la oxidación de alcoholes por la presencia de éste (Caputi *et al.*, 1968).*

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido de agua, azúcar y etanol de las rodajas de piña, deshidratadas osmóticamente por 3 horas en soluciones osmóticas de Agua-Etanol-Sacarosa son mostradas en las Figuras 1 y 2.

En la Figura 01 se observa que la humedad disminuye a medida que aumenta el contenido de sacarosa en la solución, llegando a perder después de 3 horas hasta un 15 % de agua. Vélez-Ruiz *et al.* (2000) estudiaron la deshidratación osmótica de rodajas de piña y reportaron que después de 400 minutos de proceso, las rodajas de piña perdieron aproximadamente 29 % de agua y ganaron 9 % de azúcar; los valores de humedad menores obtenidos en el presente trabajo se debieron, posiblemente, al menor tiempo de proceso.

En la Figura 1.B se observa que el contenido de etanol en la rodaja de piña aumenta a medida que aumenta la concentración de etanol en la solución, resultado lógico porque aumenta la

gradiente de concentración de etanol entre la solución y la rodaja de piña, coincidiendo con lo reportado por Zapata y Castro (1999); asimismo, en la misma figura se puede notar que el contenido de etanol en la rodaja de piña, para una concentración constante de etanol en la solución, aumenta con el incremento de sacarosa en la solución, esto se podría explicar porque al ser la sacarosa insoluble en etanol, ésta compite por el agua presente en la solución, "elevando" la concentración de etanol en la solución, aumentando el gradiente de concentración entre la solución y la rodaja de piña. Según Cussler (1976), cuando existe la presencia de dos osmodeshidratantes, el flujo difusivo de cada componente es afectado por el otro.

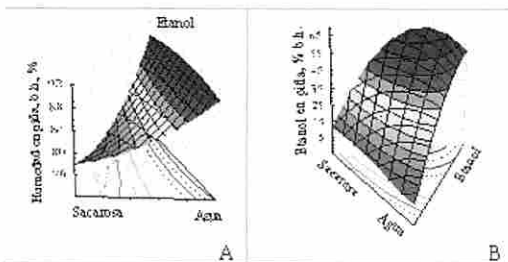


Figura N° 1. Influencia de la concentración de sacarosa y etanol de la solución en la humedad y etanol contenidos en la piña.

La Figura 2 nos muestra que conforme aumenta la sacarosa en la solución, el contenido de azúcares totales en la piña también aumenta; comportamiento similar fue observado por Kaymak – Ertekin y Sultanoglu (2000) quienes trabajaron con manzana utilizando soluciones de sacarosa que variaron desde 40 a 66% (p/p) a una temperatura de 30°C.

Secado. Las cinéticas de secado de las rodajas de piña deshidratadas osmóticamente en soluciones acuosas de etanol (Figura 3A), sacarosa (Figura 3B) y soluciones de agua-etanol-sacarosa (Figura 3C) a 50°C son presentadas en la Figura 03. En la figura se observa que la humedad, de todas las rodajas de piña, disminuyó a medida que aumentó el tiempo de secado, resultado esperado y que concuerda con lo reportado por Park (1998), quienes estudiaron la cinética de secado del cacao.

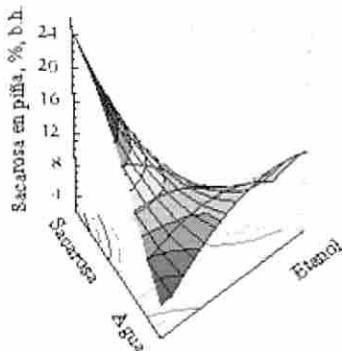


Figura N° 2: Influencia del etanol y la sacarosa en la solución en el contenido de sacarosa.

Las muestras deshidratadas en soluciones de agua-etanol, mostraron un contenido de humedad inicial más alto que las rodajas de piña no tratadas o las deshidratadas en soluciones de sacarosa, esto porque en el contenido de humedad determinado, además de cuantificar el agua presente, también midió el etanol ganado durante la deshidratación osmótica. En la Figura 03-B se aprecia que la humedad inicial es inversamente proporcional al incremento de la concentración de sacarosa en la solución, asimismo se observa que las humedades iniciales de las rodajas de piña deshidratadas osmóticamente en soluciones de agua-sacarosa son más bajas que las rodajas de piña no tratadas y deshidratadas osmóticamente en soluciones agua-etanol y agua- etanol-sacarosa; esto debido a que la sacarosa es un buen agente osmodeshidratante (Bohuon *et al.* 1998; Kaymak – Ertekin y Sultanoglu 2000).

En la Figura 3-C se observa el efecto combinado de la sacarosa y el etanol: la velocidad de secado de las rodajas de piña

deshidratadas osmóticamente en soluciones ternarias es mayor que las deshidratadas osmóticamente con soluciones de agua-sacarosa y la humedad inicial es menor que las deshidratadas en soluciones de agua etanol, ya que la sacarosa disminuye la humedad y la presencia del etanol aumenta la velocidad de secado. Las rodajas de piña que tuvieron menor humedad inicial y mayor velocidad de secado fueron las rodajas deshidratadas en soluciones de agua-etanol-sacarosa de 36-24-40 %.

Para poder apreciar con mayor claridad el comportamiento de los osmodeshidratantes, se evaluaron las rodajas de piña deshidratadas osmóticamente a las 8,50 horas de iniciado el proceso de secado tal como se observa en la Figura 4, la misma que nos muestra cómo afectan las concentraciones de las soluciones deshidratantes en la humedad de la rodaja de piña secada durante el lapso mencionado. Se observa que la humedad aumenta con el incremento de sacarosa en la solución hasta llegar a un máximo después del cual, ésta disminuye con el aumento de sacarosa en la solución. En la misma figura se observa que la humedad disminuye con el aumento de etanol.

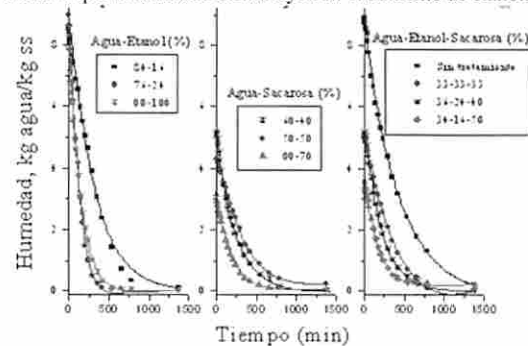


Figura N° 3. Cinética de secado a 50°C y 3 horas de D.O.

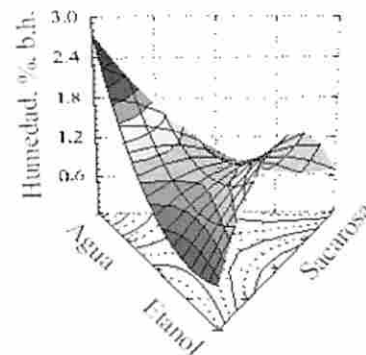


Figura N° 4. Influencia de la concentración de la solución en la humedad de la rodaja de piña D.O. 3 horas y secada 8,5 horas.

Efecto de la temperatura

En la Figura 5, se muestra la influencia de la temperatura en la cinética de secado de las rodajas de piña deshidratadas osmóticamente en soluciones de agua-etanol-sacarosa; en la figura se observa que cuando existe un tercio de cada uno de los osmodeshidratantes, la velocidad de secado es baja para la temperatura de 40°C; teniendo mejor comportamiento las rodajas que fueron secadas a 60 °C y 50 °C. Con las temperaturas de 50 y 60 °C se observa que las velocidades de secado aumentan considerablemente obteniéndose por tanto humedades menores y disminución en el tiempo de secado; resultados similares reportaron Sankat *et al.* (1996) y Uddin *et al.* (1990) quienes trabajaron con rodajas de banana y piña al natural y deshidratada osmóticamente en soluciones de sacarosa., respectivamente, y observaron que la temperatura influyó en las cinéticas de secado, disminuyendo el tiempo de secado. La temperatura es un factor muy importante en los procesos de secado y actúa de manera muy efectiva favoreciendo la quiebra de resistencia a los procesos de transferencia de masa. Bain y Mcbean (1969) trabajaron con ciruela seca, y observaron cambios en la fina estructura superficial de la cáscara, cuando la temperatura aumentó de 45 a 63°C.

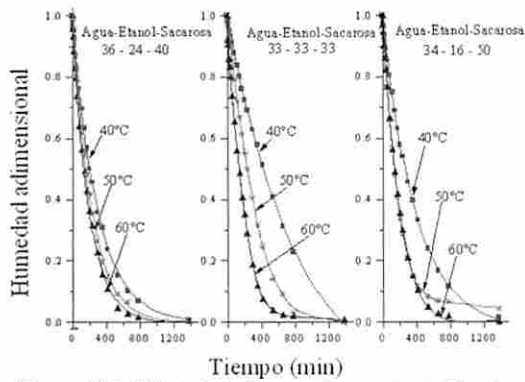


Figura N° 5: Efecto de la temperatura en la cinética de secado de rodajas de piña D.O. en soluciones de agua-etanol-sacarosa.

CONCLUSIONES

La deshidratación osmótica de piña en soluciones de agua-etanol, dio como resultado humedades más altas, con soluciones de agua-sacarosa las humedades más bajas, y con soluciones de agua-etanol-sacarosa, humedades intermedias.

En el proceso de secado, la humedad disminuye a medida que se incrementa la temperatura y el tiempo de secado.

El efecto combinado de la sacarosa y el etanol determina que a medida que se incrementa la concentración de sacarosa en la solución, la humedad inicial disminuye, mientras que cuando se aumenta la concentración del etanol, la velocidad de secado aumentó.

Las muestras de mejor aceptación, determinadas a través del análisis sensorial, fueron las rodajas de piña secadas a 50 °C y deshidratadas osmóticamente con soluciones de agua-etanol-sacarosa (50-0-50), (60-0-40), (34-16-50) y sin tratamiento osmótico. Las rodajas de piña secadas a 40 °C no tuvieron aceptación, ya que presentaron oscurecimiento y humedad en la superficie.

BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS

- Bain, J. M. & Mcbean, D. M. 1969. The development of the cuticular wax layer in prune plums and the changes occurring in it during dring. *Australian J. of Biological Science*, 22, 101-110.

- Bohuon, P.; Collignan, A.; Rios, G.M.; Raoult-Wack, A.L. 1998. "Soaking Process in Ternary Liquids: Experimental Study of Mass Transport Under Natural and Forced Convection", *Journal of Food Engineering*, 37, 451-469.

- Kaymak-Ertekin, F. & Sultanoglu, M. 2000. Modelling of mass transfer during osmotic dehydration of apples. *Journal of engineering*, 46, 243-250.

- Lericci, C. R., Pinnavaia, G., Dalla Rosa, M. & Bartolucci, L. 1985. Osmotic dehydration of fruit: influence of osmotic agents on drying behaviour and product quality; *Journal of food Science*; vol. 50, pp. 1217 – 1226.

- Medina-Vivanco, M.; Sobral, J. P. And Hubinger, M. 1998. Mass transfer during dewatering and salting of tilapia for different volume ratios of brine and fillets. *Proceeding of 11th International Symposium Drying, Greece*, and v. A, p. 852-859.

- Medina-Vivanco, M.; Sobral, J. P. And Hubinger, M. 2002. Osmotic dehydration of tilapia fillets in limited volume of ternary solutions. *Chem. Eng. J.*, v. 86, p. 199-205.

- Ranganna, S. 1979. *Manual of analysis of fruit and vegetables products*. New delhi: Mc-Graw Hill Publishing Caompany, 634p.

- Sanjinez-Argandoña, E.J.; Cunha, R.L.; Menegalli, F.C. A and Hubinger, M.D. 2005. Evaluation Of Total Carotenoids And Ascorbic Acid In Osmotic Pretreated Guavas During Convective Drying. *Ital. J. Food Sci.* N. 3, Vol. 17, 305-314.

- Sankat, C. K; Castaigne, F. & Maharaj, R 1996. The air dring behaviour of fresh and osmotically dehydrated banana slices. *International Journal of Food Science and Technology*, 31, 123-135.

- Uddin, M. S.& Hawlander, M. N. A. 1990. Evaluation of drying chaacteristics of pineapple in the production of pineapple powder. *J. of Food Processing and Preservation*, 14, 375-391

- Ulisses M. Teles, Fabiano A. N. Fernandes, Sueli Rodrigues, Andre´a S. Lima, Geraldo A. Maia & Raimundo W. Figueiredo. 2006. Optimization of osmotic dehydration of melons followed by air-drying. *International Journal of Food Science and Technology* 2006, 41, 674–680.

- Velez Ruiz, J.F. Kosegaten-Conde, C. And Lopez –Malo A., 2000 "Study of the osmotic dehydration of pineapple rings. 12th international Drying Symposium.

- Welti, J.; Palou, E.; Lopez-Malo And Balseira, A. 1995. Osmotic Concentration Drying of Mango Slices; *Drying Technology*, vol 13 (1&2), pp. 405 -416.

- Zapata, José Y Castro, Gilberto. 1999. Cinética de la deshidratación osmótica de piña con alcohol etílico como osmodeshidratante. *Revista Facultad de Ingeniería*. URL:<http://jaibana.udea.edu.co/grupos/revista/nro018/articulos.html>.

EVALUACIÓN DE LA FIBRA DIETÉTICA DE HARINA DE CAIGUA (*CYCLANTHERA PEDATA L.*) OBTENIDA POR DOS MÉTODOS DE SECADO

Baldeón-Chamorro, Edwin y Campos Gutiérrez, David

Departamento de Ingeniería de Alimentos

Facultad de Industrias Alimentarias

Universidad Nacional Agraria La Molina

Lima Perú

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se determinó diferentes tipos de fibra en muestras de harina de caigua, las cuales fueron secadas por aire caliente, por atomización, y por atomización realizando un tratamiento enzimático previo. La hidrólisis enzimática se realizó con 1% (p/p) de una mezcla de celulasa y pectinasa (1:1, p:p) a pH 5 y 50°C. El tiempo de hidrólisis se consideró 30 min para una hidrólisis moderada y 90 min para una hidrólisis alta. En la caigua secada por aire caliente se encontró mayor contenido de fibra dietética total (FDT) de 42.91 g/100 g ms, seguido de la harina de caigua secada por atomización (34.79 g/100 g ms), mientras que la harina de caigua por atomización previa hidrólisis enzimática alta presentó la mejor proporción de fibra dietética soluble (FDS): fibra dietética insoluble (1:1.78) representando la FDS el 35.9% de la FDT. Los valores de fibra detergente neutra (FDN) y fibra detergente ácida (FDA) fueron mayores en la harina de caigua secada por aire caliente (22.05% y 20.23%, respectivamente) que las muestras atomizadas. Los valores de fibra cruda van desde 8.86 hasta 13.01 g/100 g ms. En la presente investigación se encontró que la FDT fue 3.3 a 4.1 veces más que la fibra cruda y que la FDI fue 1.55 veces más que la FDN.

INTRODUCCION

Cyclanthera Pedata (Caigua), una planta cultivada por los antiguos peruanos, se utiliza para ensalada y tiene gran importancia por sus efectos antiinflamatorio, hipocolesterolémico e hipoglicémico (De Tommasi *et al.* 1996). La caigua constituye uno de los cultivos prometedores, no sólo por sus características culinarias, sino también por su potencial económico, nutricional y medicinal. Existen 3 variedades: "italiana", "criolla" y "serrana", se consume cocida en diferentes preparaciones, rellenos de carne, pescado o queso y en estado fresco, en ensalada, salsa dulce y otros. La caigua en América del Sur recibe los nombres de: korila, pepino salvaje, caihua, achocha y achoccha (Arroyo, 1957).

La fibra dietética (FD) se define como el conjunto de polisacáridos y lignina, que son resistentes a la hidrólisis de las enzimas digestivas del hombre. Es un componente importante de los alimentos vegetales: frutas, hortalizas, cereales y legumbres. Recibe una particular atención por sus propiedades y por el papel que desempeña en el organismo humano. La FD se clasifica en fibra dietética soluble (FDS) y fibra dietética insoluble (FDI) ambas fracciones se caracterizan por poseer efectos fisiológicos totalmente distintos y tener un gran impacto en la alimentación. Existe la necesidad por parte de los investigadores de definir los componentes de la fibra que puedan tener influencia en la prevención y tratamiento de determinadas enfermedades (Saura-Calixto, 1993 y Redondo y Ordoñez, 1996).

Periago *et al.* (1993) y Hernández *et al.* (1995) señalan que la FDS incluye sustancias pécicas, algunas hemicelulosas, polifenoles solubles, gomas, mucílagos y proteínas. La FDS es variable, existiendo altas proporciones en algunas fuentes de fibra como las frutas, las hortalizas y las legumbres. La FDI incluye celulosa, hemicelulosa, ligninas, taninos, proteínas, cutina, cera, productos de Maillard y almidón resistente, estas predominan en las hortalizas, verduras, leguminosas frescas y en los granos de cereales. La FD tiene un valor terapéutico en el tratamiento de enfermedades coronarias. Se recomienda un consumo de fibra de 20-35 g/día ó 10-13 g/1,000 kcal para personas adultas sanas, de los cuales al menos el 30% debería ser de fibra soluble (Periago *et al.*, 1993).

La FD influye en diversas acciones fisiológicas como la de ser un regulador intestinal, actuar como laxante, ser factor preventivo del cáncer al colon, absorber ácidos biliares, retardar la absorción intestinal y ser un factor que favorece la disminución del colesterol y la glucosa en la sangre (Periago *et al.*, 1993; Saura-Calixto y Larrauri, 1996).

OBJETIVOS

El objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar el contenido de fibra dietética de la harina de caigua obtenida por dos métodos de secado.

MATERIALES Y METODOS

2.1. La materia prima

La materia prima utilizada fue la caigua (*Cyclanthera pedata L.*), variedad criolla, procedente de la ciudad de Trujillo, fue adquirida en el mercado Mayorista de verduras de Lima.

2.2. Enzimas comerciales

Bioceululasa P79: Producto granulado, producido por Biocon S.A. a partir de una cepa seleccionada de *Trichoderma reesei*, su actividad enzimática fue 10.46 U/ml. **Ultrazym 100G:** Producto granulado, producido por Novo Nordisk Fermente S.A. a partir de una cepa seleccionada de *Aspergillus niger*, su actividad enzimática fue de 281.1 U/ml.

2.3. Preparación de las muestras

Se trabajó con muestras de caigua secada por aire caliente y secada por atomización. En este último caso se trabajó con pulpa sin hidrólisis enzimática y con pulpa sometida a hidrólisis enzimática.

Para la obtención de la harina de caigua secada por aire caliente (HACSAC), se seleccionó la materia prima, descartándose aquellas que presentaron signos de deterioro. Luego se realizó un lavado por inmersión y posterior enjuague con chorros de agua potable. El cortado se realizó con cuchillos de acero inoxidable para retirar las semillas y se obtuvieron trozos de 1 cm² aproximadamente. El secado se realizó en un secador de aire caliente con una velocidad de aire de 1.7 m/s y 65°C, hasta que la muestra alcanzó aproximadamente 8% de humedad. La caigua seca se sometió a molienda y finalmente se pasó por una malla N° 70 (250 µm) para obtener partículas homogéneas.

Para la obtención de la harina de caigua secada por atomización. Las operaciones de selección, lavado, cortado fueron similares a los realizados en la obtención de HCSAC. Después de cortado se trituró y se realizó la molienda en el molino coloidal (paso de luz de 1.3 mm). El secado por atomización se realizó a temperatura de entrada de aire de 170°C, temperatura de salida de aire de 85°C y a la velocidad de alimentación de 12 L/h.

Para la obtención de la harina de caigua secada por atomización previa hidrólisis enzimática se evaluaron dos tratamientos: la hidrólisis se realizó con 1% (p/p) de una mezcla de celulasa y pectinasa (1:1, p:p) y por tiempos de 30 min (para la hidrólisis moderada) y 90 min (para la hidrólisis alta), las pulpas hidrolizadas fueron calentadas a 100°C por 4 min para la inactivación de las enzimas y finalmente fueron atomizadas manteniendo las condiciones indicadas en el párrafo anterior.

2.4. Métodos de análisis

Determinación de la viscosidad. Para determinar la viscosidad se empleó el viscosímetro capilar Canon Fenske N°360. La medición se realizó a 25°C.

Fibra Dietética Insoluble y Soluble. Se empleó el Método AOAC 991.43 (1995).

Fibra detergente neutro y ácido. Se determinaron por el método de Goering y Van Soest (1970).

Fibra cruda. Se empleó el método de la AOAC (1995)

2.5. Análisis estadístico El análisis estadístico empleado para evaluar los diferentes métodos de determinación de fibra, fue el Diseño Completo al Azar (DCA), seguido de la prueba de comparación Tuckey a un nivel de significancia del 95%, con el fin de determinar la amplitud del límite de significación. Los datos fueron procesados con el STATGRAPHICS para Windows versión 4.0 de 1999.

RESULTADOS Y DISCUSION

3.1. Determinación de fibra dietética soluble, insoluble y total

En el Cuadro 1 y Figura 1 se muestran los resultados de la determinación de FD en las muestras de harina de caigua obtenidas por dos métodos de secado. Las muestras fueron: Harina de caigua secada por aire caliente (HCSAC), Harina de caigua atomizada sin hidrólisis enzimática (HCA), Harina de caigua atomizada previa hidrólisis enzimática moderada (HCAHm) y Harina de caigua atomizada previa hidrólisis enzimática alta (HCAHa).

Cuadro 1: Contenido de fibra dietética soluble(FDS), fibra dietética insoluble (FDI) y fibra dietética total (FDT) (g/100 g ms)¹

Muestra	FDS	FDI	FDT ²	FDS: FDI
HCSAC	8.52 ^a	34.39 ^a	42.91 ^a	1: 4.04
HCA	5.22 ^a	29.57 ^b	34.79 ^b	1: 5.66
HCAHm	7.47 ^b	28.76 ^b	36.24 ^b	1: 3.85
HCAHa	12.98 ^b	23.14 ^b	36.12 ^b	1: 1.78

1: Promedio de dos repeticiones. 2: Obtenido de la suma de fibra insoluble y soluble. Los promedios seguidos por letras diferentes son significativamente diferentes (p<0.05)

El contenido de FDS de la harina de caigua atomizada previa hidrólisis enzimática alta (HCAHa) aumentó en 52.3% y el contenido de FDI disminuyó en 32.7% respecto a la harina de caigua secada por aire caliente (HCSAC). Si se compara la HCAHa y la harina de caigua secada por atomización sin hidrólisis enzimática (HCA), el contenido de FDS se incrementó considerablemente por efecto de la hidrólisis (148.7%) y la FDI disminuyó en 21.7%; algo similar sucede con la harina de caigua atomizada previa hidrólisis enzimática moderada (HCAHm) pero en menor porcentaje.

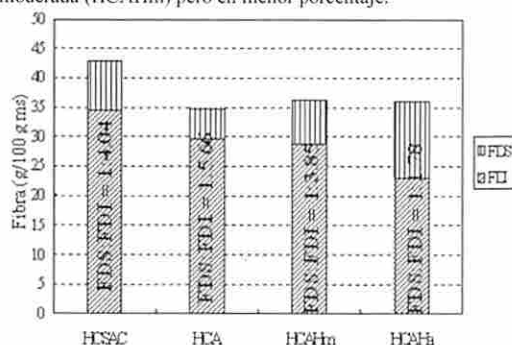


Figura 1: Proporción de la fibra dietética soluble y de la fibra dietética insoluble de muestras de harina de caigua

El ANVA de los valores de FDS, FDI y FDT indicó que existen diferencias altamente significativas entre las muestras de harina, de acuerdo a la prueba de comparación de Tuckey (p<0.05). En el contenido de FDS existen diferencias entre la HCAHa y las otras muestras de harina. Respecto al contenido de FDI no existen diferencias entre la HCA y la HCAHm. Cheung y Chau (1998) indicaron que el contenido de FDT para las harinas de leguminosa cocidas se incrementó con el tiempo de cocción. El máximo porcentaje de incremento en las harinas de leguminosas cocidas fue de 47.8%. En las muestras de harina de caigua disminuyó el contenido de FDT diferente al reporte anterior para leguminosas cocidas, esto indicaría que el método de obtención de harina influye en el contenido de fibra dietética.

Svanberg *et al.* (1997) reporta valores de FDI, FDS y FDT para frijoles frescos de 23.9, 11.1 y 35.0 g/100 g ms,

respectivamente. En la presente investigación se encontraron valores de FDT similares a los reportes anteriores.

Quaglia y Carletti (1995) indican que el tratamiento enzimático es responsable de la disminución del contenido de FDI. El tratamiento enzimático en condiciones favorables genera excesiva despolimerización de la fibra, esto lleva a la formación de fragmentos de bajo peso molecular solubles en etanol al 80%. Pechanek *et al.* (1995) señalan que el contenido de FDT para el salvado de guisante disminuyó en 10% y para el salvado de trigo hubo un aumento en 10%, después del tratamiento enzimático. En la presente investigación el contenido de FDT de las muestras atomizadas fue en promedio 15.8% menor que el encontrado en la HCSAC. En las muestras atomizadas no se encontró una influencia del tratamiento enzimático sobre el contenido de FDT.

Quaglia y Carletti (1995) obtuvieron valores de FDI, FDS y FDT de 45.3, 16.6 y 61.9 g/100 g ms, respectivamente, para residuos de la remolacha después de la hidrólisis enzimática, siendo los valores antes de la hidrólisis de FDI, FDS y FDT de 56.9, 11.7 y 68.6 g/100 g ms, respectivamente. Se observó un aumento del contenido de FDS después de la hidrólisis enzimática. En la presente investigación se observó que el contenido de FDS aumentó después de la hidrólisis enzimática de la caigua en 52.3%.

Aguilar (2002) reporta para residuos de naranja de 1: 1.85 y para cáscara de camote de 1: 5.49, Pechanek *et al.* (1995) obtuvieron para salvado de trigo una proporción de 1: 16.8 y para el salvado de guisante de 1: 13.7; además, Quaglia y Carletti (1995) obtuvieron en residuos de remolacha de 1: 2.7. En la presente investigación los valores de la relación FDS:FDI de las muestras de harina de caigua se encuentran dentro de los valores reportados por la literatura (Cuadro 1).

Los porcentajes de FDS (referido a la FDT) en las muestras de harina de caigua fueron: secada por aire de 19.9%, HCA de 15.0%, HCAHm de 20.6% y HCAHa de 35.9%; al respecto Saura-Calixto (1993) recomienda el consumo de fuentes de FD con 30 a 40% de FDS, según el autor este valor proporciona los mejores beneficios para la salud. Por lo tanto, se puede indicar que HCAHa está dentro de las recomendaciones, mientras las otras muestras se encuentran lejos de este valor.

Análisis de los contenidos de fibra detergente neutra, fibra detergente ácida y fibra cruda

En el Cuadro 2 se muestra el contenido de fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida (FDA) y fibra cruda (FC) de muestras de harina de caigua secadas por dos métodos. Se observó que el contenido de FDN y FDA fue mayor en la HCSAC que las muestras atomizadas.

Cuadro 2: Contenido de fibra detergente neutra, fibra detergente ácida y fibra cruda (g/100 g ms)

Muestra	FDN ¹	FDA ¹	FC ²
HCSAC	22.05 ^a	20.23 ^a	13.01
HCA	19.81 ^b	17.28 ^b	9.33
HCAHm	17.96 ^c	16.41 ^b	10.29
HCAHa	15.68 ^d	14.02 ^c	8.86

1: Promedio de dos repeticiones, 2: Promedio de tres repeticiones y se obtuvo de la composición proximal. Los promedios seguidos por letras diferentes son significativamente diferentes (p<0.05)

En la HCA disminuyó en 10.2% el contenido de FDN y en 14.6% el contenido de FDA respecto a la HCSAC. En la HCAHa y atomizada disminuyó en 28.9 y 30.7% los contenidos de FDN y FDA, respectivamente (referido a la HCSAC).

El ANVA de los valores de FDN y FDA indicó que existen diferencias altamente significativas entre las muestras de harina de caigua, de acuerdo a la prueba de comparación Tuckey (p<0.05) en el contenido de FDN existen diferencias entre cada una de las muestras y respecto al contenido de FDA existen diferencias entre la HCSAC y las muestras atomizadas, en cambio no existen diferencias entre la HCA y HCAHm.

Herranz *et al.* (1981) reportan valores de FDN y FDA para la vainita de 20.43 y 17.03% (base seca), respectivamente. Asimismo, McConnell *et al.* (1974) reportan valores de FDA para la coliflor de 26.7% y Spiller (1986) reporta valores de FDN y FDA para brócoli cocido de 21.4%; no se encontró reportes de FDN y FDA para la caigua. Al comparar el contenido de FDN entre la vainita y la caigua secada por aire caliente se observó similitud, en cambio el contenido de FDA resultó menor que en la coliflor.

Los valores del contenido de fibra cruda de las muestras de harina de caigua difieren con los reportados por El Ministerio de Salud (1996) de 32.0% y por Arroyo (1957) de 21.54% (expresada como celulosa).

En la Figura 2 se observó claramente la diferencia existente entre los métodos de determinación de fibra, siendo mayor la el contenido de fibra dietética total. Al respecto Badui (1999) indica que el procedimiento de determinación de la fibra cruda provoca la pérdida de 70 y 80% en la hemicelulosa, de 30 a 50% de la celulosa y hasta 90% de la lignina. En la presente investigación se encontró que la FDT es 3,3 a 4,1 veces la fibra cruda.

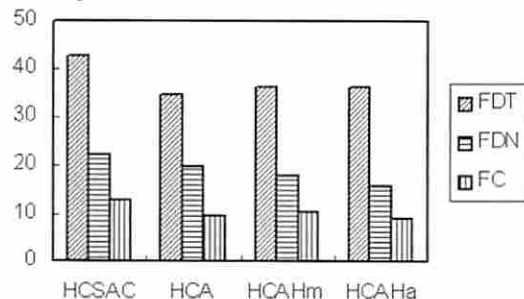


Figura 2: Diferencia en el contenido de fibra entre los diversos métodos

En la actualidad, la caigua está ampliamente difundido por sus propiedades fisiológicas y funcionales para la salud, sobresaliendo en la capacidad reducir el colesterol en la sangre y en la regulación intestinal, este último debido a la capacidad de adsorción de agua. En 1996 Tommasi y colaboradores estudiaron el contenido de compuestos fenólicos y determinaron una aceptable capacidad antioxidante en la caigua, la presencia de compuestos bioactivos hacen de la caigua un alimento funcional de mucho interés en la comunidad científica.

CONCLUSIONES

La harina de caigua secada por aire caliente y por atomización, con y sin hidrólisis enzimática previa al secado por atomización es una fuente de fibra dietética total, presentando valores comprendidos entre 36.1 y 42.9 g/100 g ms.

El tratamiento enzimático, con pectinasa y celulasa, previo al secado por atomización, permite modificar las proporciones de fibra dietética insoluble (FDI) y fibra dietética soluble (FDS) de las muestras atomizadas. En la pulpa sometida a una hidrólisis enzimática y luego atomizada la proporción de FDS: FDI fue de 1:1.78, respecto a las muestras no hidrolizadas (secado por aire caliente) donde la proporción fue 1:4.04.

Existen diferencias entre los métodos de análisis de fibra y se demuestra que la FDT fue 4.1 veces mas que la FC y que la FDI fue 1.55 veces mayor que la FDN.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, A. 2002. Características físico-química de fibra y mezclas de fibra dietaria obtenidas a partir de residuos de naranja (*Citrus sinensis*), salvado de cebada (*Hordeum vulgare*) y cáscara de camote (*Ipomoea batatas* (L.) Lam). Tesis para optar el grado de Magister Scientiae. UNALM. Lima. Perú.
- AOAC. 1995. Official Methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists. 15th edition. Editado por Kenneth Helrich. Arlington. USA.
- Arroyo, J. 1957. La *Cyclanthera pedata*, su cultivo. Tesis. Escuela Nacional de Agricultura. Lima. Perú.
- Badui, S. 1999. Química de los alimentos. 3^{ra} edición. Longman de México editores, S.A. de C.V. México.
- Cheung, P. y Chau, C. 1998. Changes in the dietary fiber (Resistant starch and nonstarch polysaccharides) content of cooked flours prepared from three chinese indigenous legume seeds. J. Agric. Food Chem. 46: 262-265.
- De Tommasi, N.; De Simone, F.; Speranza, G. and Piza, C. 1996. Studies on the constituents of *Cyclanthera pedata* (caigua) seeds: Isolation and Characterization of Six New Cucurbitacin Glycosides. J. Agric. Food Chem. 44: 2020-2025.
- Goering, H. and Van Soest, P. 1970. Forage fiber analyses. Agricultural Handbook No. 379. Agricultural Research Service. United States Department of Agriculture.
- Hernández, T.; Hernández, A y Martínez, C. 1995. Fibra alimentaria. Concepto, propiedades y métodos de análisis. Alimentaria. Abril. 19-30.
- Herranz J.; Vidal-Valverde, C. y Rojas-Hidalgo, E. 1981. Cellulose, hemicellulose and lignin content of raw and cooked spanish vegetables. J. Food Sci. 46: 1927-1933.
- McConnell, A.; Eastwood, M. y Mitchell, W. 1974. Physical characteristics of vegetable foodstuffs that could influence bowel function. J. Sci. Fd. Agric. 25: 1457-1464.
- Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud y Centro Nacional de Alimentación y Nutrición. 1996. Tabla Peruana de composición de alimentos. 7ma. Edición. Lima. Perú.
- Pechanek, U.; Pfannhauser, W.; Holler, C.; Irsingler, K. y Pintscher, H. 1995. Chemical and physiological aspects of enzyme-modified fibre. European Journal of Clinical Nutrition. 49(Suppl.3): S291-S295.
- Periago, M.; Ros, G.; López, G.; Martínez, M. y Rincón, F. 1993. Componentes de la fibra dietética y sus efectos fisiológicos. Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 33(3): 229-246.
- Quaglia, G. y Carletti, G. 1995. Enzymatic treatments for the production of modified dietary fibre. European Journal of Clinical Nutrition. 49(Suppl.3): S130-S133.
- Redondo, A. y Ordoñez, J. 1996. Fibra alimentaria: propiedades e interés nutricional. Alimentación, Equipos y Tecnología. Enero/Febrero. 77-86.
- Saura-Calixto, F. 1993. Fibra dietética de manzana: Hacia nuevo tipo de fibra de alta calidad. Alimentaria. Mayo. 57-61.
- Saura-Calixto, F. y Larrauri, J. 1996. Nuevos tipos de fibra dietética de alta calidad. Alimentación. Equipos y Tecnología. Enero/Febrero. 71-74.
- Spiller, G. 1986. Handbook of dietary fiber in human nutrition. CRC Press. Inc. Boca Raton. Florida. USA. 451-460.
- Svanberg, M.; Suortti, T. y Nyman, M. 1997. Physicochemical changes in dietary fiber of green beans after repeated microwave treatments. J. Food. Sci. 62: 1006-1011.

PREPARACION DE MERMELADA Y TE DIURETICO DE *Opuntia ficus*

Játiva Cumandá

Proyecto PIC 113 SENACYT-ESPOCH Panamericana Sur 1,5 km- Riobamba Ecuador.
jumandis@yahoo.com. Jesús López-ESPOCH.

INTRODUCCIÓN

La *Opuntia ficus* en el Ecuador crece desde 0 hasta los 3000 m.s.n.m., apreciada por sus frutos comestibles y por el mucilagos de sus cladoneos para elaboración de mermeladas, ensaladas, guisos y te de flores. Determinada la aceptabilidad, con análisis bromatológico microbiológico en materia prima y productos.

METODOLOGÍA

Usar tunas silvestres para utilizar los cladonios y flores; la fruta se compro.
 El análisis bromatológico, en Cesal y ESPOCH, preparación, degustación, costo.
 La mermelada de primera en kg: pulpa 50, azúcar 55, agua 12,5 adicionando 25, 50, 75 y 100 % de gel de cladonio.
 Para el te 5,10, 15 y 20 g de flores por litro. La actividad diurética "In vivo" en cobayos, la aceptación por personas con panel de cata.

RESULTADOS

Tabla 1 Aceptabilidad de mermelada

gel %	Agradable	Mucila ginoso	precio S
25	60	1	1,07
50	47	27	1,16
75	41	20	1,45
100	0	61	1,90

El análisis bromatológico y microbiológico de la mermelada es apto para consumo.

Las flores tienen en %: humedad 10; materia extraña 39,7; pétalos 60,3 y flavonoides 0,098.

El te diurético en cobayos con 15g y en personas mayor aceptación 9g.

Tabla 2 Actividad diurética

Duncan Grouping	Mean	N	Tratamiento
A	80.16	6	C 10% Te de flor de Tuna
A	77.93	6	B 5% Te de flor de Tuna
BA	62.24	6	A testigo sin te de tuna

CONCLUSIÓN

La tuna en pos cosecha elaborar mermeladas con 25% de mucilago, 75% fruta.

Te diurético de 9 g de flores por litro, de cladonios de poda elaborar mermeladas, ensaladas gel para uso medicinal en emplastos.

AGRADECIMIENTO

Al SENACYT, Corporación de tuneros de Guano. Municipio de Guano.

BIBLIOGRAFÍA

Crea tu propia micro empresa Elaboración de mermeladas
 Librería Editorial Macro. Folleto Técnico.
 Enma Wittig de Penna, Evaluación Sensorial una metodología actual paratecnología de alimentos. Talleres Gráficos USACH
 White, A., Hierbas del Ecuador (Ediciones Libri Mundi Quito, Ecuador, 1985)
 X Jornadas de Ciencia y Tecnología en alimentos. I Convreso Ecuatoriano de Ingeniería de los alimentos. Ambato , junio 14-17 del 2006

EFFECTO DEL QUITOSANO EN LA CONSISTENCIA DE MERMELADAS DE MORA

Arancibia, Mirari Y.; Almeida, Alba V. y Alvarado, Juan de Dios.
 UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
 CENTRO DE INVESTIGACIONES
 FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
 Ciudadela Ingahurco, Casilla 18-01-0334
 y_arancibia@hotmail.com
 AMBATO-ECUADOR

Palabras clave: reología, quitosano, innovación tecnológica, mermeladas, mora.

RESUMEN

La mora (*Rubus glaucus*, Bonth), denominada también zarzamora, se utiliza para la elaboración de jaleas y mermeladas, productos ampliamente aceptados y cotizados por los consumidores. En la actualidad se utiliza pectina como agente gelificante para obtener la consistencia adecuada de las mermeladas, una alternativa para mejorar las características de textura son los biopolímeros, como el quitosano obtenido de caparzones de camarón mediante dos métodos, cuya tecnología se indica.

Se determinaron los valores del índice de consistencia y del índice de comportamiento de flujo, a tres temperaturas 30, 40, 50°C, utilizando muestras de mermelada de mora elaboradas con la adición de quitosano obtenido de caparzones de camarón por un método indirecto y por un método directo, para comparar estos valores con las muestras hechas con pectina cítrica y un testigo sin adición de gelificantes.

En el trabajo se establece que el quitosano es una nueva alternativa para cambiar la consistencia y palatabilidad de las mermeladas de mora, aumenta la elasticidad y produce una disminución del índice de consistencia hasta una tercera parte con relación a la muestra testigo, lo cual es adecuado para la elaboración de productos tipo jalea. Un efecto contrario se observa cuando se utiliza pectina cítrica con un incremento de la consistencia, adecuado para mermeladas y dulces.

INTRODUCCIÓN

Las mermeladas son conservas de frutas con azúcar, elaboradas mediante cocción hasta conseguir la consistencia de un fluido espeso, su tecnología es bastante conocida e incluye el uso de pectinas como agente gelificante; sin embargo cualquier innovación, como es el uso de nuevos agentes espesantes es promisoria, en especial si se utilizan compuestos que sean digeribles y no tóxicos.

El quitosano es un polímero derivado de la quitina parcial o totalmente desacetilada. Es usualmente preparado a partir de la quitina la cual se puede encontrar en hongos, crustáceos, moluscos, anélidos, pero por lo general se utilizan caparzones de cangrejo, langosta, langostino y camarón ya que se constituyen en desechos industriales (Shepherd, 1997).

El quitosano tiene muchas aplicaciones en la agricultura, medicina, tratamiento de efluentes y en alimentos. Se utiliza como agente de espesamiento para soluciones ácidas acuosas y como coloides protectores para dispersiones en general. La solución obtenida disolviendo quitosano en ácido acético diluido, o en otros ácidos, puede ser hilada, vaciada o extrusada, en diversas formas, para obtener películas, hilados y agentes de apresto de textiles. También se ha sugerido su uso como medio regulador de la viscosidad y de la resistencia de gel, y como componente de pegamentos de papel (Kirk y Othmer, 1970).

Según lo recopilado por Devlieghere y colaboradores (2004), en el caso de alimentos puede ser utilizado como agente antimicrobiano, antioxidante en salsas, inhibidor de empareamiento enzimático en manzanas y patatas, además como películas para recubrimiento de frutas y vegetales frescos, por presentar un efecto como inhibidor de enzimas (Huaqiang, 2004) y como agente clarificante en jugos (Sandipan, 2004).

Varias son las razones para determinar las propiedades reológicas de los alimentos, una de ellas es que permiten elucidar la estructura o composición de alimentos y analizar los cambios estructurales que ocurren durante un proceso (Rao, 1986).

En el caso de utilizar un viscosímetro rotacional de cilindro simple, los parámetros reológicos de fluidos con comportamiento no newtoniano tipo pseudoplástico, pueden ser determinados con la ecuación siguiente (Alvarado, 1996):

$$\log \mu_F = \log m + (n - 1) \log (4 \pi N) \quad (1)$$

Donde μ_F es la viscosidad aparente o ficticia [Pa.s], m el índice de consistencia [Pa.sⁿ], n es el índice de comportamiento de flujo y N la velocidad de rotación (revoluciones por segundo [rps]).

Según Rao (1977), durante el procesamiento, almacenamiento, transporte, comercialización y consumo de alimentos, se registran diferentes temperaturas; por esta razón sus propiedades reológicas se estudian como función de la temperatura. Con pocas excepciones, el efecto de la temperatura sobre el índice de consistencia se expresa mediante ecuaciones que relacionan al inverso de la temperatura absoluta con el logaritmo del parámetro reológico, de la forma:

$$\log m = \log m_0 + (K/T_a) \quad (2)$$

Donde T_a es la temperatura absoluta [K], m_0 es el intercepto y K es una constante que indica la sensibilidad del índice de consistencia a los cambios de temperatura.

El propósito del trabajo fue determinar en mermeladas de mora el efecto del quitosano como agente gelificante mediante la determinación de los parámetros reológicos, como una alternativa para la obtención de productos con mejor consistencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó pectina cítrica de grado comercial y dos tipos de quitosano obtenidos a partir de caparzones de camarón. Un primer tipo de quitosano se obtuvo según la tecnología detallada por Almeida y Arancibia (2005), consiste en desproteinizar y desmineralizar a los caparzones para la separación de la quitina, a partir de la cual por desacetilación se llega a quitosano, denominado método indirecto. Para el caso de quitosano obtenido por el método directo, se usó la tecnología indicada por Alvarado y colaboradores (2005), en la cual las operaciones de desproteinización previas a quitina son eliminadas, llegándose a quitosano de manera directa desde los caparzones mediante un tratamiento alcalino severo. En la Figura 1 se presenta el diagrama con las operaciones correspondientes al método indirecto. En el método directo luego del molido, únicamente se hace la desmineralización con HCl, lavado y cocción final con NaOH concentrado, se lava, seca y muele para obtener quitosano en polvo.

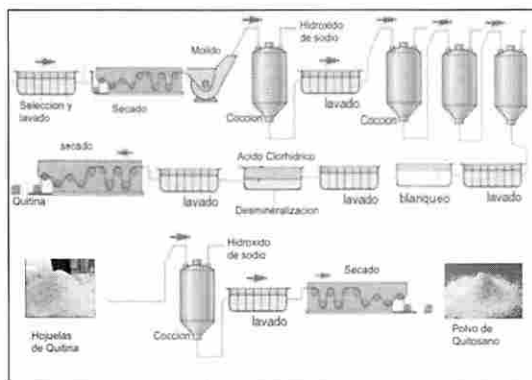


Figura 1. Diagrama de Proceso para la obtención de quitosano a partir de caparazones de camarón por el Método Indirecto.

Preparación de las mermeladas

Moras de la variedad Castilla fueron adquiridas maduras en una frutería de la ciudad de Ambato y lavadas con abundante agua para remover sustancias adheridas. El jugo fue extraído mediante licuado de la fruta con agua en una relación 2:1 (w:v). Seguidamente se tamizó el jugo obtenido y se llevó a cocción. Al cabo de cinco minutos se añadió el azúcar (sacarosa comercial) en una relación 1:2 (w:w). El quitosano se disolvió en una solución de ácido cítrico al 1% y se añadió en el jugo cuando este alcanzó los 60°C. Se dejó hervir hasta cuando la mermelada alcanzó los 68°Brix, posteriormente se envasa y almacena, para al día siguiente determinar los parámetros reológicos.

Determinaciones reológicas

Las determinaciones de los parámetros reológicos se realizaron con un viscosímetro rotacional Brookfield LVT-D, acoplado con el brazo protector y uno de los rotores cilíndricos LV, según la consistencia de la mermelada colocada en vasos altos de cristal de 600 ml. Para el cálculo de la viscosidad aparente se utilizaron los factores suministrados por la casa fabricante, con la aplicación de la ecuación (2) mediante análisis de regresión se determinó el índice de consistencia a partir del intercepto y el índice de comportamiento de flujo a partir de la pendiente. Antes de cada medida las muestras se sumergieron en el agua de un baño termostático para la estabilización de las temperaturas seleccionadas (30, 40 y 50° ± 1 °C), las lecturas para calcular el esfuerzo de cizallamiento se realizaron con aumento de la velocidad de rotación, seguida de una disminución de la velocidad de rotación, al no existir diferencias en las lecturas del porcentaje de la escala total, los cálculos se hicieron con los datos registrados disminuyendo la velocidad de rotación (Alvarado, 1996).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos del índice de consistencia y del índice de comportamiento al flujo, obtenidos en todas las muestras de mermeladas de mora y a las tres temperaturas, se presentan en la Tabla 1, la primera réplica corresponde a las mediciones hechas luego de 1 día de elaborada la mermelada, la segunda réplica luego de 15 días de almacenamiento en recipientes de vidrio a 15±5°C.

En todas las determinaciones se estableció un excelente ajuste de los datos experimentales con la ecuación (1), la cual relaciona el logaritmo de la velocidad de rotación con el logaritmo de la viscosidad ficticia o aparente, los coeficientes de correlación fueron superiores a 0,9 para todas las pruebas. Lo anterior indica que el modelo de la ley de la potencia para fluidos pseudoplásticos es adecuado para describir el flujo de mermeladas de mora con quitosano y/o pectina como espesantes. Este comportamiento indica una ruptura o reorganización continua de la estructura, dando como resultado una menor resistencia para el flujo, que se

atribuye a la presencia de sustancias de alto peso molecular, así como a la dispersión de sólidos en la fase líquida.

No se establecieron diferencias entre los datos correspondientes a las dos réplicas, lo cual indica que el comportamiento reológico de las mermeladas corresponde a fluidos no newtonianos independientes del tiempo, sin que exista, durante el tiempo analizado, tixotropía ni reopexia. Lo anterior está de acuerdo con lo indicado previamente, al no encontrarse diferencias significativas en las lecturas de torque registradas en el equipo con aumento y disminución de la velocidad de rotación.

Con relación al índice de consistencia (m), que es un indicativo de la forma como están interrelacionados o estructurados los compuestos que forman al producto, se observa que la muestra testigo, elaborada exclusivamente con jugo de mora y azúcar presenta valores altos, entre 34 a 36 [Pa.sⁿ] a 30°C, e indica que la mora contiene en su estado natural la cantidad suficiente de compuestos gelificantes para elaborar conservas. La adición de pectinas provoca un incremento de los valores del índice de consistencia, hasta 47 a 48 [Pa.sⁿ] a 30°C, la mermelada es más espesa. En forma contraria la adición de quitosano obtenido tanto por el método indirecto como por el método directo, provoca una disminución de los valores de este índice con relación a los de la muestra testigo, el efecto es más notorio cuando se utilizó quitosano obtenido por el método indirecto, en cuyo caso los valores disminuyen hasta 12 a 13 [Pa.sⁿ] a 30°C. Según lo anterior el efecto del quitosano es de un debilitamiento del gel y hace que los productos por su consistencia se asemejen más a jaleas, lo cual es de interés para la elaboración de nuevos productos.

Por el costo elevado del quitosano, se prepararon muestras con sustitución parcial de la pectina hasta la mitad de los porcentajes utilizados en la industria. Los resultados del índice de consistencia indican que el efecto del quitosano es más pronunciado que el de la pectina, hay una marcada disminución de valores, en especial cuando se utiliza una mayor cantidad de los dos agentes gelificantes, 3,75% (w/w) con relación a la cantidad de mermelada obtenida, hasta llegar a valores de 9 [Pa.sⁿ] a 30°C y 3 [Pa.sⁿ] a 50°C. Cuando la sustitución fue de 2,5% también se observa la disminución de los valores del índice de consistencia, valores más bajos se registraron cuando se utilizó quitosano obtenido por el método directo.

El índice de comportamiento de flujo (n) indica el grado de desviación con relación al comportamiento newtoniano que presentan los fluidos, cuando son pseudoplásticos los valores son menores a 1 y mientras más bajos sean mayor es la pseudoplasticidad. La muestra testigo es la que presenta los valores más bajos, entre 0,17 a 0,23; la adición de pectina y de quitosano en general disminuye la pseudoplasticidad, en especial el quitosano la afecta considerablemente, los valores están entre 0,36 a 0,55 para el caso de quitosano obtenido por el método indirecto, y entre 0,22 a 0,54 para quitosano obtenido por el método directo, para las muestras con 5% de compuesto y a las tres temperaturas. Según lo anterior la presencia de quitosano provoca un mejor orden de los componentes de las mermeladas que lleva el flujo hacia un comportamiento elástico.

El efecto de la temperatura sobre el índice de consistencia de las mermeladas es descrito satisfactoriamente por la ecuación (2). En la Figura 3 se presenta la representación linealizada correspondiente a la muestra testigo y a tres muestras con 5% de compuesto gelificante. Los valores de K, que según la forma de la ecuación corresponden a la pendiente, indican que la muestra testigo sin gelificantes, presenta la mayor estabilidad a los cambios de temperatura (K = 649 [K]). La adición de pectina provoca una mayor sensibilidad del producto a los cambios de temperatura (K = 1359 [K]); sin embargo la adición de quitosano hace que las mermeladas cambien sensiblemente su consistencia con variaciones de la temperatura, cuando se utilizó quitosano obtenido por el método indirecto K = 1999 [K] y cuando se

Tabla I. Parámetros reológicos determinados en mermeladas de mora a diferentes temperaturas.

Mermelada:	30°C				40°C				50°C			
	m [Pa.sn]		n		m [Pa.sn]		n		m [Pa.sn]		n	
	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 1	Réplica 2
Testigo, sin quitosano ni pectina	35,90	34,37	0,21	0,20	27,74	29,94	0,17	0,18	25,77	25,60	0,23	0,21
Con pectina (5%)	47,83	47,26	0,27	0,27	26,79	26,53	0,24	0,24	25,09	24,56	0,12	0,11
Con quitosano, método indirecto (5%)	12,64	13,42	0,52	0,55	7,61	7,49	0,47	0,46	4,91	5,00	0,36	0,37
Con quitosano, método directo (5%)	18,95	26,09	0,43	0,54	10,46	10,67	0,39	0,39	5,30	5,32	0,22	0,22
Con quitosano, método indirecto (2,5%) y pectina (2,5%)	34,39	36,40	0,41	0,43	24,31	24,51	0,25	0,24	21,46	21,10	0,29	0,28
Con quitosano, método directo (2,5%) y pectina (2,5%)	7,94	8,05	0,27	0,26	6,43	6,32	0,30	0,31	4,31	4,23	0,38	0,36
Con quitosano, método indirecto (3,75%) y pectina (3,75%)	12,97	13,81	0,62	0,62	11,43	11,45	0,41	0,41	3,88	3,93	0,28	0,29
Con quitosano, método directo (3,75%) y pectina (3,75%)	8,60	8,53	0,44	0,44	7,00	6,92	0,40	0,39	3,41	3,35	0,38	0,34

forma de la ecuación corresponden a la pendiente, indican que la muestra testigo sin gelificantes, presenta la mayor estabilidad a los cambios de temperatura ($K = 649$ [K]). La adición de pectina provoca una mayor sensibilidad del producto a los cambios de temperatura ($K = 1359$ [K]); sin embargo la adición de quitosano hace que las mermeladas cambien sensiblemente su consistencia con variaciones de la temperatura, cuando se utilizó quitosano obtenido por el método indirecto $K = 1999$ [K] y cuando se utilizó quitosano obtenido por el método directo, $K = 3659$ [K].

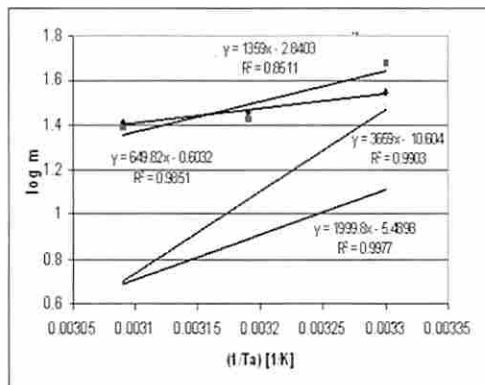


Figura 2. Cambios de los valores del índice de consistencia de mermeladas de mora a distintas temperaturas (◊ testigo, sin pectina ni quitosano. ■ con pectina. ▲ con quitosano método indirecto. X con quitosano método directo).

CONCLUSIONES

El quitosano es un compuesto que puede ser utilizado para cambiar la consistencia de mermeladas de mora, provoca un debilitamiento del gel y un comportamiento más elástico con mayor sensibilidad a los cambios de temperatura, hace que los productos por su consistencia se asemejen más a jaleas, lo cual es de interés para la elaboración de nuevos productos. El efecto del quitosano en la textura de las mermeladas es contrario al de la pectina que provoca un espesamiento del producto; sin embargo cuando se utilizan mezclas de los dos agentes gelificantes, prevalece el efecto del quitosano.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Técnica de Ambato-Ecuador por el financiamiento a través del Proyecto BIOFILMS-UTA-CENIFCIAL. Al Proyecto Internacional CYTED XI.20 por el apoyo para realizar pasantías en laboratorios especializados.

BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS

- Almeida, A.V. y Arancibia, M.Y. 2005. Desarrollo de Tecnología para la Obtención de Quitina y Quitosano a partir del Caparazón de Camarón (*Penaeus vannamei*). Tesis para optar por el Título de Ingeniero en Alimentos. Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Ambato-Ecuador. 110p. y Anexos.
- Alvarado, J.de.D., Almeida, A.V., y Arancibia, M.Y. 2005. Método directo para la obtención de quitosano de desperdicios de camarón para la elaboración de películas biodegradables., V Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos. Puerto Vallarta-México. 6p.
- Alvarado, J. de D. 1996. Principios de Ingeniería Aplicados a Alimentos. Editorial Radio Comunicaciones. Quito -Ecuador. Pp. 180-237.
- Devlieghere, F., Vermeulen, A., Debevere, J. 2004. Chitosan: Antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiology*, 21:703-714.
- Huaqiang, D., Liangying, Ch., Jiahou, T., Kunwang, Z., Yueming, J. 2004. Effects of chitosan coating on quality and shelf life of peeled litchi fruit. *Journal of Food Engineering*. 64: 355-358,
- Kirk, R y Othmer. 1970. Enciclopedia de Tecnología Química. Primera Edición en español. Editorial Hispano Americana. México. 13: 423-428.
- Rao, M. A. 1986. Rheological properties in fluid foods. In: "Engineering Properties of Foods", Rao, M.A. and Rizvi, S.S.H. (Eds.). New York. Marcel Dekker Inc. p:1-48.
- Rao, M. A. 1977. Rheology of liquids foods. A review. *J. Texture Studies*, 8:135-168.
- Sandipan, Ch., Sudipta, Ch., Bishnu P., Arun., G. 2004. Clarification of fruit juice with chitosan. *Process Biochemistry*. 39: 2229-2232.
- Shepherd, R., Reader, S and Falshaw, A. 1997. Chitosan functional properties. *Glycoconjugate Journal*. 14: 535-542.

UTILIZACIÓN DE LA PULPA DE CAFÉ (*Coffea arabica*) PARA ELABORAR UNA BEBIDA ALCOHÓLICA FERMENTADA

Belloso Genette, Borthomiert Daniel, Urbaneja Eduardo, Colivet Julio, Noriega Adriangela.
Universidad de Oriente. Núcleo Monagas. Escuela de Zootecnia. Programa de Tecnología de Alimentos. Maturín. Venezuela.
✉ belloso@vahoo.com

RESUMEN

El café es el fruto del cafeto verde, maduro o en bolas, incluye el grano tostado o molido, descafeinado, líquido o soluble. El principal subproducto de esta producción es la pulpa, la cual representa en base seca alrededor del 29% del peso del fruto entero. La pulpa del café catuaré rojo y amarillo se fermentó hasta alcanzar el 12% de sólidos solubles empleándola de forma seca o fermentada, entera o triturada. Se realizaron cuatro tratamientos con cinco repeticiones. Se les realizaron análisis de acidez total, pH, sólidos solubles y grado alcohólico. Se realizó una evaluación sensorial con 30 panelistas no entrenados utilizando una escala hedónica para determinar la bebida con mayor preferencia. Los resultados fueron analizados estadísticamente utilizando un ANAVA, para determinar las diferencias entre los tratamientos a un nivel de probabilidad de $p < 0,05$. La bebida fermentada presentó un a acidez total final de 1,9%, 12°Brix, pH de 2,5, y un grado alcohólico de 7, lo que permitió clasificarlo como vino enverado y chacoli o vino abocado. La bebida de mayor aceptabilidad fue elaborada con pulpa de café amarilla fermentada y triturada.

INTRODUCCIÓN

El café en Venezuela tiene una infinidad de nombres (negrito, guayoyo, marrón, con leche) todos para referirse a la bebida aromática obtenida de los granos de la planta cafeto. (Rivero, 2004). La pulpa del café es el primer subproducto que se obtiene de su procesamiento, sin embargo esta originando serios problemas de contaminación ambiental. Generalmente es empleado para consumo animal o como abono agrícola. Su empleo en otras áreas alimenticias no es común, por ello se plantea utilizar la pulpa de café catuaré amarillo y rojo, como materia prima en la elaboración de una bebida alcohólica fermentada. (Braham y Brezan, 1978)

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron las cerezas maduras con el color característico amarillo o rojo; seguidamente se realizó el despulpado de manera manual. Se pesaron muestras de 10 kg en cada uno de los tratamientos, fermentado entero y fermentado triturado, para la variedad amarilla y roja, todas las muestras se colocaron en congelación para permitir el proceso fermentativo. Para preparar el pie de cuba se licuaron 30 g de pulpa en 100 mL de agua, se le añadieron 20 g de azúcar y 1 g de ácido cítrico, además se disolvieron 2 g de levadura en polvo comercial en 50 mL de agua, se completó el volumen final a 200 mL y se mezcló con un agitador magnético por una hora. Para la preparación del mosto se pesó un kg de pulpa entera y triturada de las variedades de café y se le añadió agua hasta alcanzar 0,3% de acidez total empleando una titulación con NaOH 1N. Se ajustaron los sólidos solubles con azúcar hasta alcanzar 22%. Para la fermentación se colocó el mosto en botellas de vidrio de 18 L de capacidad y se le adicionó mosto al 0,5%. Se midió el pH (Covenin, 1315-79), acidez total (Covenin 1151-77) y sólidos solubles (Covenin 924-83) diariamente hasta alcanzar 12°Brix. Se realizaron dos trasegados (a los 7 días y al terminar la fermentación). La bebida obtenida se pasteurizó en botellas de vidrio por 30 min a 60°C. (Tourelles y Bellegarde, 2005). El grado alcohólico se

determinó con el alcoholímetro. Para identificar el tratamiento de mayor agrado se realizó una prueba de aceptabilidad a 20 panelistas. A los resultados se les aplicó un análisis de varianza y con la prueba estadística TUKEY se demostró la diferencia entre las bebidas. (Steel y Torrie, 1999).

RESULTADOS

Se obtuvieron las bebidas siguiendo el esquema tecnológico propuesto en la figura 1. Las cerezas fueron escogidas maduras, sin picaduras ni abrasiones para garantizar un buen proceso de fermentación. La limpieza y despulpado se realizó con agua potable en una superficie limpia para evitar la presencia de bacterias que pudiesen interferir en el proceso. Aunque la congelación limita la actividad microbiológica el proceso fermentativo se realiza lentamente lo que facilita el aumento en la acidez y rendimiento del producto. En el trasegado se eliminan las conchas y otras sustancias suspendidas en el mosto. El tiempo de pasteurización permitió la eliminación de las levaduras sin evaporar el alcohol de la bebida.

Recolección y selección del café

Lavado y despulpado

Pesado y almacenaje en congelación

Descongelado y trituración

Preparación del mosto Preparación del pie de cuba
Embotellado e inicio de la fermentación

1 Trasegado 1 semana

2 Trasegado

Pasteurización 60°C/30 min

Embotellado

Figura 1. Diagrama del proceso de elaboración de la bebida alcohólica con la pulpa de café catuaré rojo y amarillo.

En el cuadro 1 se observan las determinaciones físico-químicas de la pulpa, el mosto, el inicio y el final de la fermentación de la pulpa del café.

Cuadro 1. Determinación de los parámetros físico-químicos de las bebidas alcohólicas preparadas con pulpa de café.

Tipo de pulpa	Pulpa			Mosto			Inicio del proceso			Final del proceso			
	%SS	pH	%Ac	%SS	pH	%Ac	%SS	pH	%Ac	%SS	pH	%Ac	%Al
AEF	11	4,9	2,6	2	4,3	0,5	22	4,3	0,3	12	2,6	1,8	7
ATF	14	3,9	2,8	1	4	0,6	22	5,8	0,3	12	2,5	1,9	7
REF	14	4,4	2,7	1	3	0,5	22	3,5	0,3	12	2,4	1,9	7
RTF	16	5,0	2,7	2	4,1	0,7	22	4,2	0,3	12	2,5	1,8	7

AEF: amarilla entera fermentada
 ATF: amarilla triturada fermentada
 REF: roja entera fermentada
 RTF: roja triturada fermentada
 %SS sólidos solubles, %Ac Acidez total, °Al Grado alcohólico

La fermentación de las pulpas se realizó por un período de 37 a 45 días, siendo menor el tiempo requerido por la pulpa amarilla para alcanzar 12°Brix (12% sólidos solubles), que fue el parámetro de referencia para considerar culminado el proceso. Al iniciarse el proceso la pulpa amarilla presentó menor cantidad de azúcares que la pulpa roja, por lo que es fácil suponer que también debe ser menor el tiempo de fermentación, estos resultados corroboran los niveles esperados en esta etapa del proceso. La disminución del pH es más evidente en la pulpa roja que en la amarilla, aunque se empleó más tiempo para alcanzar el final de la fermentación se observan mayor rango de variación en este parámetro cuando la bebida se elaboró con esta variedad. Estos resultados reportaron valores menores a los reportados por Braham y Bressani (1978) para los sólidos totales y el pH, pero mayores para la acidez. La acción de las enzimas sobre los sólidos de la pulpa facilitan el incremento de los ácidos y por lo tanto la disminución del pH, obteniéndose así un mayor rendimiento del mosto al tener que adicionar mayor cantidad de agua para alcanzar el pH deseado para la fermentación.

En ambas bebidas se alcanzó 7 grados de alcohol por lo que se pueden catalogar como vinos enverados y chacolí o vinos abocados (COVENIN 3342-1997).

La aceptabilidad de las bebidas se evaluó aplicando una planilla de aceptabilidad con escala hedónica de nueve niveles de agrado para el consumidor, los resultados se analizaron por un ANAVA no encontrándose diferencia significativa entre las variedades rojas y amarillas. La prueba de Tukey reveló que la bebida más aceptada fue la obtenida por la pulpa amarilla triturada fermentada y la de menos aceptación la roja triturada fermentada. (Figura 2)

Amarilla	Rojo	Amarilla	Rojo
Triturada	> Entera	> Entera	> Triturada

Figura 2. Niveles de aceptabilidad de las bebidas elaboradas con pulpa de café catuaré rojo y amarillo entero y triturado fermentado.

El panel de consumidores no reportó diferencias significativas en la prueba de aceptabilidad de las bebidas cuando se emplea la pulpa de café amarilla triturada o roja entera fermentada, tampoco se observó diferencia entre las bebidas utilizando la pulpa amarilla entera o roja triturada. Sin embargo si hubo diferencias entre las elaboradas con amarillo triturada-rojo entera y la amarilla entera y la roja triturada.

CONCLUSIONES

A partir de la pulpa de café se pudo obtener una bebida fermentada mediante el método de fermentación alcohólica, utilizando el diagrama propuesto.

La bebida fermentada a partir de pulpa de café reflejó una acidez final de 1,9; un contenido de sólidos solubles de 12 °Brix y un pH de 2,5.

El grado alcohólico de la bebida fermentada producida fue de 7. La bebida obtenida puede ser clasificada como vino enverado y chacolí o vino abocado

Las bebidas preparadas cumplen con los requisitos de la norma COVENIN 3342:1997 en cuanto al contenido del grado de alcohol.

Las bebidas con mayor aceptabilidad fueron las realizadas con pulpa de café amarilla fermentada triturada y roja fermentada entera seguidas de amarilla fermentada entera y roja fermentada triturada.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos la colaboración del Instituto de Investigaciones Agrícolas de Caripe, Monagas, Venezuela.

BIBLIOGRAFÍA.

- Braham, J. y Bressani, R. 1978. Pulpa de café. Composición, Tecnología y Utilización. INCAP. Bogotá. Colombia. 152p.
- Covenin, 1977. Comisión venezolana de normas industriales. 1151-77. Frutas y hortalizas. Determinación de Acidez. Ministerio de Fomento. Fondonorma. Caracas, Venezuela.
- Covenin, 1979. Comisión venezolana de normas industriales. 1315-79. Determinación de pH. Ministerio de Fomento. Fondonorma. Caracas, Venezuela.
- Covenin, 1983. Comisión venezolana de normas industriales. 924-83. Frutas y productos derivados. Determinación de sólidos solubles. Ministerio de Fomento. Fondonorma. Caracas, Venezuela.
- Covenin, 1997. Comisión venezolana de normas industriales. 3342-97. Vinos y derivados. Requisitos Ministerio de Fomento. Fondonorma. Caracas, Venezuela.
- Rivero, Y. 2004. Café- Venezuela. Tazas cargadas de crisis. Documento en línea. Disponible en www.ipsenespanol.net/interna.asp?idnews=29650. Consulta: 13-06-04.
- Steel, S. y Torrie, W. 1999. Bioestadística. Principios y Procedimientos. Mc Graw Hill. México. P 528-530.
- Tourelles y Bellegarde. 1972. La conservación de los vinos. Documento en línea. Disponible en www.tourelles.com/artcle.php3?id_artcle=157. Consulta 20-07-06.

MICROENCAPSULATION OF LYCOPENE IN LIPOSOMES FOR FOOD APPLICATIONS: A PRELIMINARY STUDY

Borges, R.P.; Silva, T.F.; Pinho, S.C.
 USP, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos –
 Departamento de Engenharia de Alimentos
 Av Duque de Caxias Norte 225 – Jd Elite – Pirassununga – SP - Brazil
 Phone (55 19) 35654288 – Fax (55 19) 3565 4284
 e-mail: samantha@usp.br

Keywords: lycopene, microencapsulation, carotenoids, liposome.

SUMMARY

Purified soy phospholipid was used to prepare multilamellar liposomes (MLV) containing pure lycopene by the film hydration method. The data obtained by quasi-elastic light scattering (QLS) showed the liposomes (10 mg phospholipids/mL in the final liposomal dispersion) had diameters in the range of 700 - 800 nm. A method to quantify the encapsulated lycopene was adapted from the literature, using a two-phase extraction with ethanol and petroleum ether, with good reproducibility. Four formulations were tested and the maximum encapsulation efficiency attained was 50%. The addition of a disaccharide (trehalose) as a cryoprotector in the liposomal formulation seemed to increase the encapsulation efficiency. Two formulations were lyophilized, and the resulting powders had a very low water activity, one of the desirable characteristics for future food applications. Scanning electronic microscopy was also carried out to observe the morphological characteristic of the lyophilized liposomes.

INTRODUCTION

One of the most remarkable advantages of liposomes as a microencapsulation method is their capacity of encapsulating hydrophobic substances, especially when synthesized as multilamellar vesicles (MLV). Nowadays, among the most important hydrophobic compounds in the functional ingredients category are the carotenoids (β -carotene, lycopene, lutein, asthaxanthin, for example), whose antioxidant properties are widely known. Moreover, they are very valuable natural pigments used by the food industry. However, they are substances very sensitive to light and oxidation, which must be protected in order to increase their shelf-life.

Microencapsulation can be one of the ways employed to reach this aim, but the protection of lycopene is still a challenge in the food field, as it is one of the most sensitive carotenoid, and very few studies about this topic are found (Matioli and Rodriguez-Amaya, 2002; Matioli and Rodriguez-Amaya, 2003; Shu *et al.*, 2006). As for liposomes, there is not any reference using this system for protection of carotenoids aiming food applications; however, there are many studies employing these nanoparticles to encapsulate carotenoids in fundamental studies about their antioxidant action (Socaciu *et al.*, 2000; Kosticka-Gugala *et al.*, 2003; McNulty *et al.*, 2007). The objective of this paper is to present the results of an initial study about the feasibility of encapsulating lycopene in liposomes for future food applications, in liquid and solid formulations.

MATERIALS AND METHODS

Liposome preparation: The liposomes, composed of purified soy lecithin (Lipoid S100-3, Lipoid, Germany) were prepared by the hydration film method. Shortly, the phospholipid (10 mg/mL in the final liposomal dispersion) and the lycopene dispersion (lycopene dispersed in sunflower oil, 4:1 m/m, from BASF, Germany), at a concentration of 1 mg/mL of dispersion (0,2 mg/mL of lycopene) were completely solubilized in organic solvent (chloroform/methanol 9/1, v/v). Afterwards,

these organic solvents were removed under vacuum (Marconi MA120), at 60°C (1 h). The dry lipid film was then hydrated with deionized water, at 60° C for 30 min. In the case of lyophilized samples, a cryoprotector (trehalose) was solubilized in the deionized water. In every case, the separation of non-encapsulated compounds of was carried out by centrifugation at 1000 rpm for 10 min (centrifuge Centra GP8R, Thermo IEC).

Quantification of encapsulated lycopene: To verify the lycopene effectively encapsulated in the liposomes, it was necessary to liberate it by rupturing the vesicles and extracting it with an appropriate organic phase. This procedure consisted on mixing the liposomes, anhydrous ethanol and petroleum ether (1/9/9, v/v) for 2 h. Afterwards, the ethereal phase containing the lycopene had its absorbance read at 470 nm (Lima, 2000; Rodriguez-Amaya, 2001). The following formulations were characterized in this study:

Table 1: Formulations used for the preparation of liposomal dispersions encapsulating lycopene (masses em mg).

Formulation	Lipoid S100-3	Lycopene	Trehalose*
1	200	4	---
2	200	8	---
3	200	4	800
4	200	8	800

*Based on Albuquerque (2005).

These values were based on Socaciu *et al.* (2000), who stated lycopene would be encapsulated with a good efficiency in liposomes in the range of 0.5 to 2.0% molar. With the values of lycopene and phospholipid chosen, the lycopene concentration (molar) was about 3% in the final liposomal dispersion.

Trehalose was added as a cryoprotector in formulations lyophilized, as normally done when liposomal dispersions are submitted to this drying operation, in order to avoid fusion of the vesicles and release of the encapsulated compounds (Crowe *et al.*, 1984).

Lyophilization: The liposomes were lyophilized for 24 h at after frozen with liquid nitrogen.

QLS analyses: The distribution and average diameter of the liposomes were determined by quasi-elastic light scattering (Autosizer 4700, Malvern Instruments). The measurements were obtained using a laser angle of 90°.

SEM analyses: the lyophilized powders were analyzed by scanning electronic microscopy (LEO 440i, Leica), using an acceleration voltage of 5 kV and covered by a thin gold layer.

Water activity: these values were obtained in a equipment Aqualab (Decagon, USA).

RESULTS AND DISCUSSION

The results obtained by quasi-elastic light scattering showed the liposomes encapsulating lycopene were actually formed, and had average diameters between 700 and 800 nm. An example of a size distribution curve for a sample is shown in Figure 1:

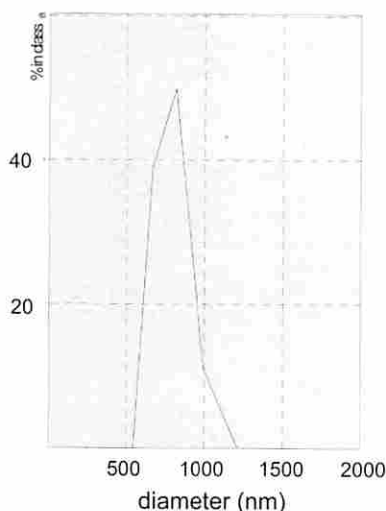


Figure 1: Example of a size distribution curve for multilamellar liposomes containing lycopene.

In order to analyze the lycopene effectively encapsulated in the lipidic nanovesicles, the method of extraction adapted from Lima (2000) must be tested in terms of reproducibility and application to these liposomes. The original method consisted in mixing anhydrous ethanol with the liposome dispersion (ratio 9/1, v/v) and after 2h quantify the encapsulated substance. In the case of lycopene, it is only partially soluble in ethanol; so, it became necessary to add another organic solvent in which it was completely soluble, giving origin to a two-phase extraction system. Therefore, the phospholipids would be solubilized in the ethanol whereas lycopene would be in the other solvent.

The solvent chosen was petroleum ether, whose absorption coefficient ($A_{1\text{cm}}^{1\%}$) for lycopene could be found in the literature (Rodríguez-Amaya, 2001). The tests showed the ratio 9:9:1 (v/v) petroleum ether:ethanol:liposomal dispersion was the best, and one example of scanning from 350 to 500 nm of a sample of liposomes containing lycopene is shown in Figure 2:

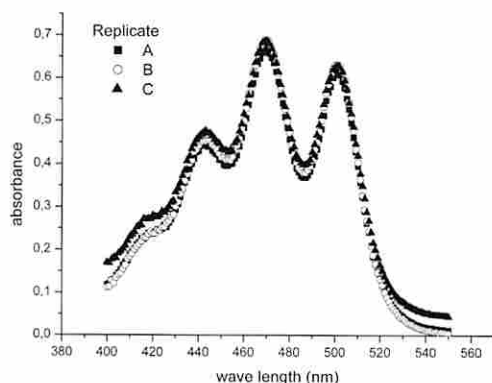


Figure 2: Example of a scanning of the ethereal phase after extraction of lycopene from liposomes (dilution of original sample: 5 times).

In Figure 2 it can be seen the three characteristic wavelengths of carotenoids appeared, exactly at 444, 470 and 502 nm, as predicted by the literature for lycopene in petroleum ether (Rodríguez-Amaya, 2001). As the maximum absorbance value was given at 470 nm, it was the one chosen to calculate the concentration of lycopene in the liposomal dispersion.

As for the encapsulation efficiency, it was tested with four different liposome formulations, as listed in Table 1. The results can be shown in Table 2:

Table 2: Encapsulation efficiencies for the different formulations.

Formulation	Average encapsulation efficiency (%)	Standard deviation
1	51*	13
2	26**	4,0
3	37**	3,7
4	48**	4,8

*Average of 4 samples.

**Average of 3 samples

None of the formulations resulted in more than 50% of encapsulation efficiency (EE) of lycopene. Some aspects must be highlighted. Comparing the formulations 1 and 2 (without trehalose), it is seen, as expected, the increase in the lycopene mass led to a decrease in the EE, indicating the maximum EE of the liposomes was already extrapolated. The same can be concluded when comparing the EE of formulations 1 and 3. Both were prepared with the same concentration of lycopene, but the addition of trehalose caused the need for more space for the cryoprotector to be also inserted among the phospholipid bilayer, decreasing the EE for the lycopene.

On the other hand, when comparing formulations 2 and 4, both with 8 mg of lycopene originally added, it can be clearly noticed the average EE increased about 80%. An explanation to this fact is that the addition of trehalose probably compensated, in terms of volume, the insertion of lycopene in the lipid bilayer. In other words, as lycopene is a very volumous molecule, it occupies a considerable volume in the hydrophobic portion of the liposome. As more lycopene is inserted, the hydrophilic interactions start to decrease, because the polar choline groups are also gradually kept more distant from each other. The insertion of trehalose, a molecule that interacts strongly with the polar phospholipid headgroup, can help the liposomes to maintain the equilibrium of these hydrophilic interactions, thus increasing their lycopene encapsulation capacity.

As for the analyses carried out with the powders obtained from the formulations 3 and 4 after lyophilization, they were the water activity and the visualization of the powder morphology by SEM. Table 3 shows the values for water activity:

Table 3: Water activities for formulations 3 and 4 lyophilized (in duplicate).

Formulation	a_w	T (°C)	a_w	T (°C)
3	0,193	25,1	0,171	24,8
4	0,115	25	0,126	25

By the values showed in Table 3, we can notice the water activity of the powders are very low, showing a very low potential of microbiological contamination, a very desirable characteristic if future food applications are expected.

Finally, the morphological analyses of the lyophilized powders by SEM demonstrated a very good aspect, with no regions with oily films (Figure 3):

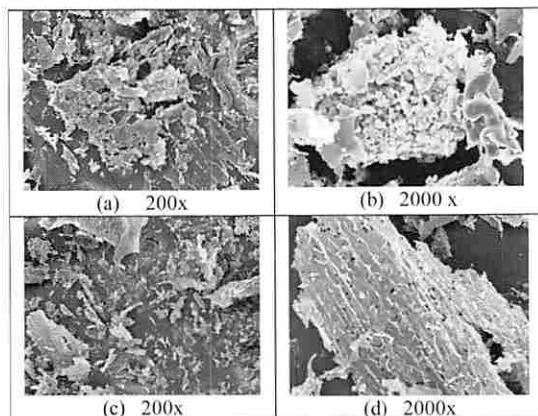


Figure 3: Scanning electronic micrographies of the lyophilized liposomes containing lycopene: (a) and (b) Formulation 3; (c) and (d) Formulation 4.

CONCLUSION

As stated in the title, this abstract intended to show preliminary studies about lycopene liposomal encapsulation. The data showed that it is feasible to incorporate lycopene in the lipid bilayer, as well as a cryoprotector in order to lyophilize the nanovesicles. Although the maximum EE reached was 50%, it is important to point out the preparation technique here presented is limited. However, it was possible to verify by the data here presented the liposomes were formed, and it was possible to extract and quantify the lycopene encapsulated.

Moreover, the lyophilization was successful, with resulting powders with very low water activity and very good morphological microscopic characteristics.

REFERENCES

- Albuquerque, E.C.M.C. *Preparação, caracterização de lipossomas e microesferas para aplicação na terapia por dessensibilização de reação alérgica*. Ph.D. Thesis – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 2005 (in Portuguese).
- Crowe, J.H.; Whittam, M.A.; Chapman, D.; Crowe, L.M. Interactions of phospholipids monolayers with carbohydrates. *Biochimica et Biophysica Acta*, 769, 151-159, 1984.
- Kostecka-Gugala, A.; Latowski, D.; Strzalka, K. *Bioch. Bioph. Acta*, 1609, 193-202, 2003.
- Lima, H.O. *Estudo da encapsulação de fármacos de primeiro tratamento da tuberculose em ciclodextrinas e lipossomas*. Ph.D. Thesis - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Brazil, 2000 (in Portuguese).
- McNulty, H.P.; Byun, J.; Lockwood, S.F.; Jacob, R.F.; Mason, R.P. Differential effects of carotenoids on lipid peroxidation due to membrane interactions: X-ray diffraction analysis. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1768, 167-174, 2007.
- Rodríguez-Amaya, D. *A guide to carotenoids analyses in food*. ILSI Human Nutrition, Washington, EUA, 2001.
- Socaciu, C.; Bojarski, P.; Aberle, L.; Diehl, H.A. *Bioph. Chem.*, 99, 1-15, 2000.

EVALUACIÓN DE TRES MÉTODOS PARA LA EXTRACCIÓN DE GOMA DE LA SEMILLA DE ACACIA DE TRES ESPINAS (*Gleditsia triacanthos L.*)

ESTÉVEZ, ANA MARIA¹, ESCOBAR, BERTA¹, MARTÍNEZ, PATRICIA¹ Y FIGUEROLA, FERNANDO²

¹Departamento de Agroindustria y Enología, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Casilla 1004 Santiago, Chile. Fax 562 – 9785796. aestevez@uchile.cl

²Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Austral de Chile

Palabras Claves: Innovación tecnológica, gleditsia, hidrocoloides, galactomananos, extracción química

RESUMEN

La obtención de goma de semilla de acacia de tres espinas (*Gleditsia triacanthos L.*), es una posibilidad interesante para la industria de alimentos. Los objetivos de esta investigación fueron, estudiar la eficiencia de tres métodos de extracción de goma de *Gleditsia*, variando el tiempo de contacto entre semilla/solución y la temperatura; y caracterizar física, química y tecnológicamente la goma de mejor rendimiento. Se utilizaron 3 medios de extracción, H₂SO₄ (72% p/v), NaOH (0,75% p/v) y agua. En los tres casos, se ocuparon las mismas temperaturas (70 y 90°C) y tiempos de contacto entre semilla y solución (15 y 25 minutos). La relación semilla:solución fue 1:3. Las gomas de mayor rendimiento se analizaron física y químicamente, determinando: color, humedad, cenizas, proteínas, fibra cruda y lípidos. En las de mejor rendimiento se determinó: capacidad de retención de agua, absorción de aceite, hinchamiento y viscosidad a dos concentraciones (0,3% y 0,6%) y temperaturas (20°C y 80°C). A cada uno de los tratamientos se le realizó tres repeticiones. El método de extracción con agua no destruyó la testa por lo cual no se pudo extraer goma. Lo mismo ocurrió al utilizar temperaturas de 70°C, en que se obtuvieron rendimientos muy pequeños. El mayor rendimiento de goma se obtuvo utilizando H₂SO₄ 72% p/v a 90°C, (32,4% del peso de semilla), no existiendo diferencias significativas entre los tiempos de 15 y 25 minutos. Al usar NaOH 0,75% p/v los rendimientos alcanzaron un 17,6%. Los valores de proteína, extracto etéreo y cenizas fueron mayores en la extracción ácida; excepto en el caso de fibra cruda y humedad. La goma extraída mediante H₂SO₄ a 90°C por 25 minutos, presenta las mejores propiedades tecnológicas y viscosidad, asemejándose a la goma de algarrobo. Se concluye que podría ser factible incorporar goma de semilla de *Gleditsia* a diferentes productos alimenticios.

INTRODUCCIÓN

La acacia de tres espinas o espinas corona (*Gleditsia triacanthos L.*), es un árbol de hoja caduca, de 25 m de altura, sus frutos son legumbres indehiscentes y elongadas de 30 a 45 cm. de longitud, en cuyo interior se encuentran 20 a 22 semillas aplanadas, duras y lisas, de color pardo a castaño oscuro. (Hoffmann, 1995, Escobar *et al.*, 2005).

De las semillas se obtiene un tipo de goma que se extrae del endosperma, la cual, se puede emplear en la elaboración de alimentos. Según Resico (2001), un inconveniente para su mayor utilización sería la presencia de una mínima cantidad de saponinas.

Las gomas o hidrocoloides son polisacáridos que tienen gran capacidad de retener agua y formar suspensiones coloidales. Se usan en la formulación de muchos alimentos principalmente por su capacidad texturizante, de viscosidad o espesamiento. No imparten aroma ni sabor a los productos en que se añaden, mejoran su textura y/o consistencia y no aportan calorías a la dieta (Glicksman, 1982; Dziezack, 1991; Williams y Phillips, 2001).

Los galactomananos son polisacáridos neutros compuestos de una cadena lineal de manosa con residuos laterales de galactosa. Normalmente se extraen del endosperma de las semillas de leguminosas el cual está bajo la testa. En las diferentes especies de leguminosas la relación

manosa/galactosa varía entre 1,6:1 y 4,5:1 (Azero y Andrade, 2002; Wielinga, 2000). La relación en el caso de la goma de *Gleditsia* es de 2,9:1 (Manzini y Cerezo, 1979).

La existencia de una testa muy dura y difícil de escarificar que dificulta la extracción de la goma de la semilla de leguminosas, ha llevado al estudio de diversos métodos químicos de extracción de gomas. Estévez *et al.*, (2004) han ensayado extracción de goma de semilla de algarrobo, utilizando H₂SO₄ al 72% p/v con la cual se logra la desintegración de la testa. Suárez (2003), en la semilla de algarrobo chileno, estudió un método de extracción con NaOH (0,75% p/v), con temperaturas de 80°C y altos tiempos de contacto. El inconveniente de utilizar medios de extracción potencialmente agresivos para el medio ambiente, hace necesario buscar tratamientos alternativos. Los objetivos de esta investigación fueron, estudiar la eficiencia de tres métodos de extracción de goma de *Gleditsia*, variando el tiempo de contacto entre semilla/solución y la temperatura; y caracterizar física, química y tecnológicamente la goma de mejor rendimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con semillas de la acacia de tres espinas (*Gleditsia triacanthos L.*), provenientes de la Región Metropolitana de Chile. Para la extracción, se utilizaron soluciones de NaOH (0,75 % p/v), H₂SO₄ (72%p/v) y agua, a temperaturas de 70°C y 90°C; y tiempos de contacto de 15 y 25 minutos, con una relación entre solución y semilla de 3:1 (tabla 1)

Tabla 1 Métodos de extracción de goma de semilla de *Gleditsia*

Tratamiento Hidróxido de sodio	Tratamiento Ácido sulfúrico	Tratamiento Agua
NaOH (0,75 % p/v), a 70 y 90°C	H ₂ SO ₄ (72%p/v), a 70 y 90°C	Agua, 70 y 90°C
Lavado con agua	Lavado con agua	
Remojo en agua por 16 horas	Remojo en agua por 10 horas	Remojo en agua por 12 horas
Separación manual, testa, goma y cotiledón	Separación manual, testa, goma y cotiledón	Separación manual, testa, goma y cotiledón
Secado de la goma en estufa a 37°C hasta 4-5% de humedad	Secado de la goma en estufa a 37°C hasta 4-5% de humedad	Secado de la goma en estufa a 37°C hasta 4-5% de humedad
Molienda	Molienda	Molienda
Envasado	Envasado	Envasado

En las gomas obtenidas se realizaron los siguientes análisis físicos y químicos: rendimiento en relación a semilla entera; humedad (AOAC, 1995) y color (colorímetro de reflectancia, marca Minolta modelo CR-2001, midiendo los parámetros L*, a*, b*); además se calculó C* y H*, según McGuire, 1992).

Las tres gomas de mejor rendimiento entre los tratamientos se analizaron química y tecnológicamente: proteínas, lípidos, cenizas y fibra cruda (AOAC, 1995); capacidad de retención de agua (WRC), capacidad de absorción de aceite (FAC) e: hinchamiento (Sw) (Femenia *et al.*, 1997); y viscosidad con

viscosímetro Haake en dispersiones (0,3 y 0,6% p/v), a 20°C y a 80°C. Las dispersiones de gomas se prepararon con un agitador magnético a 50°C por 90 minutos, y se homogeneizaron con un homogenizador Braun Minipimer (Kronberg, Alemania) por 1 minuto. Debido a la imposibilidad de obtener goma con la extracción con agua, y el mínimo rendimiento obtenido con temperaturas de 70°C; se usó un diseño experimental con estructura factorial de 2*2*2 dos medios de extracción, dos temperaturas y dos tiempos de contacto). Los resultados se analizaron por análisis de varianza (ANDEVA), y cuando se detectaron diferencias significativas se aplicó el método de rango múltiple de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El agua no fue capaz de romper la testa de las semillas de *Gleditsia*, produciéndose un leve hinchamiento de éstas y quedando la goma adherida a la testa. Los tratamientos efectuados a 70°C en las diferentes soluciones tampoco fueron capaces de romper la testa de las semillas, observándose en estos casos sólo un hinchamiento de las semillas muy parecido a lo que ocurre con el agua.

Al utilizar H₂SO₄ (72% p/v) a 90°C, como medio de extracción, se desintegró la testa, lo que permitió su fácil remoción, y finalmente la extracción de la goma, con la separación del cotiledón.

Tabla 2 Rendimiento de goma (g/100g de semilla) al utilizar H₂SO₄ (72% p/v) como medio de extracción.

Temperatura (°C)	Tiempo (min)		Prom. Tiempo
	15	25	
70	0,13	1,2	0,67B*
90	32,43	32,43	32,43A
Prom. T°	16,28a	16,82a	

*Letras distintas indican diferencias significativas con probabilidad de error de 5% (las letras mayúsculas comparan verticalmente el factor temperatura, las letras minúsculas comparan horizontalmente el factor tiempo)

En la Tabla 2 se observa que el mayor rendimiento se obtuvo al usar H₂SO₄ (72% p/v) a 90°C, no existiendo diferencias en cuanto al tiempo de contacto, alcanzando 32,4 % respecto del peso de semilla. Este valor es superior al obtenido por Suárez (2003), quien utilizando semillas de algarrobo chileno, obtuvo al extraer con H₂SO₄ un 24,4 %de goma. La cantidad de goma obtenida aumentó a medida que la temperatura fue mayor.

La Tabla 3 presenta la cantidad de goma obtenida al utilizar NaOH (0,75% p/v) como medio de extracción. Los valores obtenidos por la extracción alcalina, mostraron un menor rendimiento, obteniéndose una muy baja extracción a 70°C. El mejor tratamiento fue a 90°C por 25 minutos.

Tabla 3 Rendimiento de goma (g/100g de semilla) al utilizar NaOH (0,75% p/v) como medio de extracción.

Temperatura (°C)	Tiempo (min)		Prom. Tiempo
	15	25	
70	0,30	0,43	0,37B*
90	8,03	17,6	12,82A
Prom. T°	4,17b	9,02a	

*Letras distintas indican diferencias significativas con probabilidad de error de 5% (las letras mayúsculas comparan verticalmente el factor temperatura, las letras minúsculas comparan horizontalmente el factor tiempo)

Los rendimientos de goma obtenidos con H₂SO₄ (72% p/v), fueron mayores que en el caso de NaOH (0,75% p/v), lo que se puede deber al efecto desintegrador del ácido sobre la testa a temperaturas de 90°C. A 70°C, ni el ácido ni el álcali causan un efecto significativo sobre la testa de la semilla, lo cual, impide la hidratación de la goma y finalmente su extracción.

La humedad de la goma extraída con hidróxido de sodio fue superior a la extraída con ácido sulfúrico. El contenido de proteínas, en la goma extraída con H₂SO₄ a 90°C disminuyó al aumentar el tiempo de contacto de 15 a 25 minutos. El tratamiento de 90°C por 15 minutos fue significativamente

más alto, llegando a 10,2 g/100g. (Tabla 4). Esto concuerda con Estévez *et al.* (2004), que señalan que la extracción ácida dio lugar a un contenido proteínico más bajo debido a la hidrólisis molecular causada por el ácido.

Tabla 4 Características químicas de la goma obtenida mediante H₂SO₄ (72% p/v) y NaOH (0,75% p/v) a 90°C.

	Tratamientos			
	H ₂ SO ₄ / 15'	H ₂ SO ₄ / 25'	NaOH/ 15'	NaOH/ 25'
Humedad	3,02a ¹ B	2,59aB	4,43aA	5,51aA
Proteínas ²	10,24aA	4,87bA	-	5,56bB
Cenizas ²	1,58bA	2,18aA	-	1,09bB
Fibra cruda ²	1,51aB	0,83bB	-	1,77aA
Extracto Etéreo ²	0,64aA	0,52bA	-	0,46bB
Extracto no nitrogenado*	83,01	89,01		85,61

¹Letras distintas indican diferencias significativas con probabilidad de error de 5% (las letras minúsculas comparan horizontalmente los tiempos de contacto entre semilla y medio; mayúsculas indican diferencias entre los medios de extracción).

²Unidades expresadas en g/100g b.m.s. (base materia seca).

*Por diferencia.

El extracto etéreo en la goma extraída con H₂SO₄ fue significativamente superior a la obtenida por la extracción alcalina, debido a la posible saponificación ocurrida en el medio alcalino.

Las gomas fueron de color amarillo con una pequeña participación de rojo en las extraídas con H₂SO₄ y con un matiz más verde en las extraídas con NaOH. Todas las gomas presentaron alta luminosidad (L*), con valores entre 63,04 y 70,14 para las extracciones a 25 minutos mediante álcali y ácido, respectivamente.

Tabla 5 Parámetros de color para las gomas extraídas

Color	Tratamientos			
	H ₂ SO ₄ / 15'	H ₂ SO ₄ / 25'	NaOH/ 15'	NaOH/ 25'
L*	63,33 ^a A	70,14aA	69,98aA	63,04aA
a*	4,07aA	2,27aA	0,22aA	1,32aA
b*	22,89aA	21,47aA	22,19aA	23,55aA
C*	22,90aB	21,47aB	22,20aA	23,56aA
H*	80,01aB	83,93aB	89,22aA	86,79aA

*Letras distintas indican diferencias significativas con probabilidad de error de 5% (las letras minúsculas comparan horizontalmente los tiempos de contacto entre semilla y medio; mayúsculas indican diferencias entre los medios de extracción).

La capacidad de retención de agua (WRC, Water Retention Capacity) para la extracción ácida fluctuó entre, 0,108 g/g y 0,114 g/g a los 25 minutos par al extracción ácida y alcalina, respectivamente (tabla 6). Los valores obtenidos fueron muy semejantes a los informados por Sáenz *et al.* (2003), en gomas de algarrobo chileno. En el caso de la capacidad de absorción de aceite o FAC (Fat Absorption Capacity), la extracción mediante H₂SO₄ arrojó valores de 4,08 y 2,12 g aceite/g (a los 15 y 25 minutos respectivamente) con 90°C de temperatura, lo cual evidencia una diferencia significativa entre los tratamientos, disminuyendo a medida que aumentó el tiempo de contacto. Para la extracción con NaOH a los 25 minutos e igual temperatura se obtuvo una capacidad absorción de aceite de 2,43 g aceite/g que es menor a lo obtenido con la extracción ácida. La capacidad de hinchamiento demostrada por las gomas es algo superior a la observada en goma guar (10,6) y algo inferior a la de la goma xantano (16,4mL/g).

Tabla 6 Propiedades tecnológicas de las gomas extraídas

	Tratamientos			
	H ₂ SO ₄ / 15'	H ₂ SO ₄ / 25'	NaOH/ 15'	NaOH/ 25'
WRC (g/g)	0,109	0,108	0	0,114
FAC (g/g)	4,08	2,12	0	2,43
Sw (mL/g)	13,03	11,78	0	15,74

Una de las propiedades más importantes de las gomas es su viscosidad. En el caso de la goma extraída con H₂SO₄ por 25 min, se observó que es fuertemente dependiente de la temperatura y de la concentración (tabla 7) La viscosidad de los diferentes tratamientos aumentó, al disminuir la temperatura y al incrementar la concentración, comportamiento que también fue observado por Estévez *et al.* (2004).

Tabla 7 Viscosidad de las gomas extraídas con H₂SO₄ durante 25 min

Temperatura (°C)	Viscosidad (mPa*s)		Promedio T°
	Concentración (%)	Promedio T°	
	0,3	0,6	
20	0,039	0,305	0,172A
80	0,020	0,042	0,031B
Promedio Conc.	0,029b	0,173a	

Por otra parte, con la extracción con NaOH a 0,75% p/v a 90°C de temperatura y 25 minutos, se observaron valores menores a los de la extracción ácida (tabla 8), pero que mantuvieron el mismo comportamiento con relación a la concentración y la temperatura. Según Estévez *et al.* (2004) durante la extracción con NaOH (0,75% p/v) la goma de algarrobo chileno puede experimentar cambios en la estructura del polisacárido, causando una viscosidad más baja. A diferencia de la extracción con ácido sulfúrico a 72% p/v, que por la formación de puentes de hidrógeno, aumentaría la viscosidad de la dispersión.

Tabla 8 Viscosidad de las gomas extraídas con NaOH durante 25 min

Temperatura (°C)	Viscosidades (mPa*s)		Promedio T°
	Concentración (%)	Promedio T°	
	0,3	0,6	
20	0,005	0,203	0,104A
80	0,000	0,038	0,019B
Promedio Conc.	0,025b	0,121a	

CONCLUSIONES

El método de extracción con agua no produce ruptura de la testa de la semilla de *Gleditsia*, por lo que no es posible, en las condiciones estudiadas, extraer goma de ellas.

El método de extracción de goma con ácido sulfúrico (72% p/v), fue más eficiente que mediante hidróxido de sodio (0,75% p/v), ya que se obtuvo un mayor rendimiento de goma extraída, con temperaturas de 90°C, a ambos tiempos de extracción.

Las propiedades tecnológicas y la viscosidad dieron como resultado que la goma extraída mediante ácido sulfúrico (72% p/v) a 90°C por 25 minutos, es la que presenta los mejores valores acercándose a los de la goma de algarrobo, por lo cual podría ser factible, incorporar goma de *Gleditsia* en diferentes productos alimenticios.

REFERENCIAS

- [AOAC]. Association of Official Analytical Chemist .1995. Official methods of analysis. 19° ed. Washington D.C. USA. 1141 p.
- Azero E, Andrade C. 2002. Testing procedure for galactomannans purification. *Polymer Testing* 21: 551-556.
- Dziezack J. 1991. A Focus on Gums. *Food Technology* (3): 116-132.
- Escobar B, Estévez AM, Schulz K. 2005. Características físicas y químicas de frutos y semillas de *Gleditsia triacanthos* L. (Espina corona). En: Resúmenes de Investigación, Ciencia e Ingeniería de los Alimentos. Congreso Latinoamericano de Ingeniería y Ciencias Aplicadas. San Rafael, Mendoza, Argentina. Pág. 29.
- Estévez AM, Sáenz C, Hurtado ML, Escobar B, Espinoza S, Suárez C. 2004. Extraction methods and some physical properties of mesquite (*Prosopis chilensis* (Mol) Stuntz) seed gum. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84: 1487-1492.
- Femenia A, Lefebvre A, Thebaudin A, Robertson J, Bourgeois M. 1997. Physical and Sensory Properties of Model Foods Supplemented with Cauliflower Fiber. *Journal of Food Science* 62: 35-639.
- Glicksman M, 1982. Origins and classification of hydrocolloids. Ch. 1 In *Food Hydrocolloids*. Vol 1 Glicksman M. (ed) p.3. CRC- Press, Boca Raton, Fla.
- Hoffmann A. 1995. El árbol urbano en Chile. Ediciones Fundación Claudio Gay, Chile. 253p.
- McGuire R. 1992. Reporting of Objective Color Measurements. *HortScience* 27(12):1254-1255
- Manzini MN, Cerezo AS. 1979. The carbohydrate and protein composition of the endosperm, embryo and testa of the seed of *Gleditsia triacanthos*. *Journal of Food and Agriculture* 30: 881-891.
- Resico C. 2001. Estado actual de la información sobre productos forestales no madereros. Disponible en: http://www.fao.org/documents/show_cdr.asp?url_file=/DOCR/EP/006/AD393S/AD39s13.htm. Leído el 18 de noviembre de 2005.
- Sáenz C, Escobar B, Estévez AM, Hurtado ML, Sepúlveda, E. 2003. Estudios preliminares de propiedades funcionales de hidrocoloides extraídos de plantas de zonas áridas. 206 En: 4° Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos (CIBIA). Valparaíso, Chile.
- Suárez C. 2003. Utilización de dos métodos en la extracción húmeda de mucilago de semilla de algarrobo. (*Prosopis chilensis* (Mol.) Stuntz). Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas, Chile. 32 p.
- Wielinga WC. 2000 Galactomannans. 138-154. In: Phillips GO and Williams PA (ed). *Handbook of Hydrocolloids*. CRC Press Cambridge, England 450p.
- Williams P, Phillips G. 2001. Introduction to food hydrocolloids. 138-153. En: Phillips GO and Williams PA. (ed). *Handbook of hydrocolloids*. CRC Press Cambridge, England 450p.

FILTRACION ESTABILIZANTE DE VINOS BLANCOS: PRIMEROS RESULTADOS EN ESCALA SEMI-INDUSTRIAL

Salazar, Fernando Noé¹; de Bruijn, Johannes² y López, Francisco¹

(1) UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI,

UNITAT D'ENOLOGIA DEL CeRTA (Generalitat de Catalunya), Grupo de Investigación en Tecnología de Alimentos, Departamento de Ingeniería Química, Països Catalans 26, 43007, francisco.lopez@urv.cat, TARRAGONA - ESPAÑA

(2) UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN

Facultad de Ingeniería Agrícola, Departamento de Agroindustrias, Grupo Ingeniería en Alimentos, Casilla 537, CHILLÁN - CHILE

Palabras clave: innovación tecnológica, filtración estabilizante, vino, proteína, adsorción

RESUMEN

En este trabajo se presentan los primeros resultados en escala semi-industrial de la estabilización proteica de un vino blanco de la variedad Chardonnay del año 2006. Los resultados obtenidos han mostrado que es posible estabilizar este vino tanto mediante un tratamiento en continuo como en discontinuo, empleando óxido de zirconio como material adsorbente. La disminución de proteínas totales ha sido del 40-45%, obteniéndose vinos estables proteicamente. Las características físico-químicas de los vinos tratados no se han visto afectadas notablemente por el tratamiento de estabilización.

INTRODUCCIÓN

El vino es una de las bebidas de baja graduación alcohólica que presenta un interés comercial elevado, por ello se realizan investigaciones sobre todo en los aspectos que están relacionados con la posibilidad de mejorar técnicamente la elaboración de este producto.

A pesar de los avances significativos de la ciencia y tecnología en los últimos años, y estando en la nueva era de la proteómica y genómica funcional, la investigación sobre las proteínas de vino continúa siendo una batalla con el viejo problema del enturbiamiento proteico y el desarrollo de nuevos métodos para solucionar este problema (Waters et al., 2005).

Las macromoléculas del vino, especialmente las proteínas, pueden generar precipitados, o causar turbidez, afectando su estabilidad y aspecto visual. Es por ello que la estabilización proteica es una etapa importante en la elaboración de vinos blancos, y tiene incidencia directa sobre la comercialización del producto.

Aunque existen diferentes formas de reducir el nivel de proteínas presentes en el vino, todavía se está investigando la manera más adecuada para eliminarlas selectivamente. Esto proviene del hecho de que no todas las proteínas son indeseables, puesto que algunas de ellas forman enlaces con componentes volátiles, estabilizándose el aroma del vino, otras afectan sus propiedades organolépticas, confiriendo cuerpo y volumen. Por ejemplo en los cavas y vinos espumosos contribuyen en la estabilización de la espuma.

Existen varios agentes químicos o bioquímicos como bentonita, taninos, gelatina, caseinato, albúmina, enzimas pectolíticas, carbón, celulosa y polivinilpirrolidona, que se pueden utilizar para la estabilización de vinos blancos (Puig-Deu et al., 1996, Aguayo, 2002, Marchal et al., 2002). Sin embargo, el procedimiento más empleado, hoy en día, para estabilizar el vino blanco es mediante la adición de bentonita como material adsorbente a través de un proceso discontinuo.

Los procesos de clarificación y estabilización pueden generar descargas de agentes estabilizantes y filtrantes provenientes de procesos discontinuos, lo cual implica un impacto ambiental elevado. Además, pérdidas de producto y de agentes estabilizantes, así como un largo tiempo operacional con un significativo uso de mano de obra y dificultades en el control y automatización del proceso. Es estimado que el coste de la

estabilización proteica con bentonita en el mundo es del orden de 300-500 millones US\$ por año (Hoj et al., 2000). Además la descarga de agentes que ayudan en el proceso y que no corresponden a un producto final, no está permitida en la Unión Europea desde julio de 2002 (Boitelle et al., 2004). Cabe destacar por tanto la importancia de la producción de vino mediante procesos limpios, en consonancia a las tendencias mundiales.

El desarrollo y la implementación de un proceso continuo de estabilización proteica de vinos blancos representan un desafío tecnológico tanto desde el punto de vista de rediseño del proceso como desde el punto de vista ambiental, ya que se pretende llegar a un proceso limpio con una mínima producción de residuos.

En la literatura existen diferentes estudios a escala de laboratorio que han tratado de desarrollar un proceso continuo de adsorción para reemplazar el proceso discontinuo y el empleo de bentonita. En un estudio antiguo de Weetall et al. (1984) se empleó como material adsorbente ácido tánico inmovilizado, mientras que Powers et al. (1988) inmovilizaron proantocianidinas de la uva. Estos procedimientos son laboriosos y económicamente poco viables, y por ello no se han desarrollado posteriormente.

Estudios con resinas de intercambio catiónico (Sarmiento et al., 2000, Sarmiento et al., 2001, Gump y Huang, 1999) han mostrado una reducción de las proteínas y polifenoles, pero también han afectado al vino con una reducción del color y aroma. El empleo de resinas de intercambio iónico presenta la limitación que actualmente no está autorizada su utilización, salvo en algunos tratamientos específicos como es la estabilización tartárica y la desacidificación en la UE.

El empleo de óxidos metálicos para la adsorción de proteínas puras (Fukuzaki et al., 1996, Hughes-Wassell y Embery, 1996, Giacomelli et al., 1997, Pachova et al., 2002), plantearon la posibilidad de emplear este tipo de material para la estabilización proteica de vinos blancos. Vincenzi et al. (2005) han empleado quitina como material adsorbente para eliminar proteínas de vino en escala de laboratorio tanto en forma discontinua como continua, obteniendo resultados interesantes en algunas condiciones. Igualmente utilizando una columna cromatográfica con pequeñas cantidades han obtenido resultados interesantes de regenerabilidad, pero empleando metanol como eluyente, aspecto que bajo nuestro punto de vista es arriesgado ya que el metanol es un producto tóxico y podría pasar al vino accidentalmente.

En trabajos anteriores se han realizado estudios de estabilización de vinos blancos mediante el empleo de óxidos metálicos (Pachova et al., 2002). Los resultados obtenidos mostraron que el óxido de zirconio podría ser un material adecuado para llevar a cabo este tratamiento, además el óxido de zirconio es un material con una buena estabilidad térmica y es químicamente inerte, se ha empleado en catálisis y en procesos de separación como la cromatografía líquida y filtración por membranas. Su superficie presenta propiedades ácidas y básicas simultáneamente, que lo hacen un material muy apto para la adsorción (Chaufer et al., 2000). Además este tipo de material presenta la característica de que se puede regenerar mediante tratamiento térmico (Pachova et al., 2004a,b). Desde el punto de

vista de la estabilidad proteica Pashova et al. (2004a,b) han mostrado la posibilidad de llevar a cabo este tratamiento en forma continua en escala de laboratorio. Los resultados con vinos de la variedad Chardonnay y Moscatel muestran que se consiguen reducciones del 50% del contenido de proteínas totales, así como estabilizarlos proteicamente.

Waters et al. (2005) indican que el desarrollo de tecnologías de estabilización de vinos blancos con procedimientos con bentonita mejorados u otras alternativas, como la que se plantea en este estudio, que sean económicamente viables y mantengan la calidad del vino, son altamente deseables. Por lo tanto es necesario investigar en este campo, ya que la incidencia económica y ambiental es importante en el sector enológico.

El objetivo principal de este trabajo es mostrar la factibilidad técnica de estabilizar en escala semi-industrial un vino blanco de la variedad Chardonnay empleando óxido de zirconio como material adsorbente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales.

El óxido de zirconio (ZrO_2) empleado en este estudio ha sido suministrado por Saint Gobain NorPro (Staw, OH, USA). El material presenta forma de discos de 3 mm, con una superficie específica de 259 m^2/g , diámetro medio de poro de 3 nm y estructura es amorfa.

El vino empleado ha sido un vino blanco Chardonnay del año 2006, elaborado por la Cooperativa Agrícola de Bellvei (Tarragona, España).

Métodos de estabilización.

El óxido de zirconio se ha empacado en una columna de relleno de 6,5 L de capacidad efectiva (129 mm de diámetro interno y 500 mm de altura). Un primer tratamiento (Test 1) del vino se ha realizado mediante un proceso en continuo a caudal constante de 20 L/h, correspondiente a un tiempo de contacto de 20 min. El volumen tratado ha sido de 550 L que corresponden a 85 veces el volumen de relleno de la columna (85 BV). Un segundo tratamiento (Test 2) se ha realizado en un sistema discontinuo con reciclo del vino tratado al depósito pulmón. El volumen de vino tratado ha sido de 1000 L. El caudal de recirculación ha sido de 300 L/h.

Análisis del vino.

El contenido total de proteínas ha sido determinado por el método de Bradford (Bradford, 1976). La estabilidad proteica se ha determinado por un test térmico que consiste en calentar 50 mL de vino (previamente filtrado a través de una membrana de 0,45 μm , Millipore, Bedford, Massachusetts, HAWPO1300) durante 2 h en una bañera termostatizada a 80 °C. A continuación se enfría a 4 °C durante 2 h. Después se mide la turbidez por nefelometría y se expresa en unidades nefelométricas de turbidez (NTU). La diferencia entre la turbidez del vino antes y después del test térmico se relaciona a la estabilidad proteica del vino. Los vinos se consideran estables si esta diferencia es menor a 2 NTU (Moine-Ledoux y Dubourdiou, 1999). Las propiedades físico-químicas del vino se han determinado mediante análisis de infrarrojo usando un equipo WineScan FT120 Basic (Foss, Denmark).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se presenta la concentración de proteínas del vino tratado en función del tiempo de tratamiento para el procedimiento de estabilización en continuo. Se puede observar que la disminución de proteínas pasa de 18 mg/L a valores del orden de 10 mg/L, manteniéndose prácticamente constante durante el tiempo de tratamiento aplicado. Igualmente se puede observar que todo el vino tratado es estable, ya que el valor de la diferencia de turbidez se mantiene menor a 2 NTU.

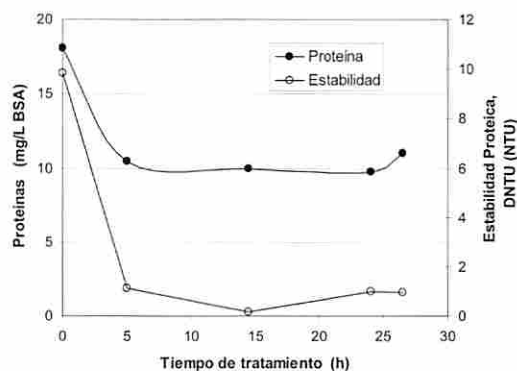


Figura 1. Variación del contenido de proteínas y de la estabilidad proteica del vino tratado por el procedimiento en continuo.

En la Figura 2 se presenta la concentración de proteínas del vino tratado en función del tiempo de tratamiento para el procedimiento de estabilización en discontinuo. Se puede observar que la disminución de proteínas pasa de 20 mg/L a valores del orden de 12 mg/L, cuando se consigue que el vino sea estable proteicamente (diferencia de turbidez menor a 2 NTU). Para llegar a estos valores ha sido necesario un tratamiento del vino durante 70 horas.

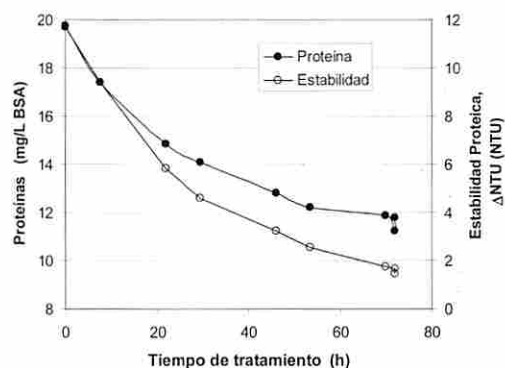


Figura 2. Variación del contenido de proteínas y de la estabilidad proteica del vino tratado por el procedimiento discontinuo.

La comparación entre los dos procedimientos de tratamiento del vino muestra que los tiempos de estabilización por unidad de volumen de vino tratado son similares.

Desde el punto de vista de la calidad físico-química de los vinos tratados, se puede observar en la Tabla 1 que no se producen diferencias importantes en los mismos. Solo se destaca una pequeña reducción de la intensidad del color, acidez total y volátil, aspecto que está en consonancia con resultados previos en escala de laboratorio (Salazar et al., 2006, Salazar et al., 2007).

Tabla 1. Propiedades físico químicas del vino inicial y de los vinos tratados por los dos procedimientos de estabilización.

Parámetro analítico	Testigo	Test 1	Test 2
Grado alcohólico (% vol)	12,51	12,53	12,52
Densidad (g/L)	0,9903	0,9903	0,9903
Acidez total (g/L H_2SO_4)	3,98	3,77	3,82
Acidez volátil (g/L ácido acético)	0,38	0,34	0,37
pH	3,33	3,37	3,37
SO_2 total (mg/L)	62	51	60
SO_2 libre (mg/L)	8,5	8	8
Ácido málico (g/L)	0,90	0,79	0,82
Ácido glucónico (g/L)	0,075	0,070	0,075
Polifenoles totales (mg/L ácido gálico)	177	167	176
Intensidad de color 420 (UA)	0,132	0,126	0,122
Materia reductora total (g/L)	1,99	1,65	1,94

CONCLUSIONES

En este trabajo se ha mostrado la viabilidad de estabilizar un vino blanco de la variedad Chardonnay en escala semi-industrial tanto usando un procedimiento de estabilización en continuo como discontinuo sin afectar notablemente las propiedades físico químicas del vino.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo ha contado con la financiación del Ministerio de Educación y Ciencia de España (proyecto No. AGL2006-07034/ALI), Universidad de Concepción (proyecto DIUC No. 205.134.003-1.0), Generalitat de Catalunya (2005SGR-01066), Programa Alban con una beca predoctoral (No. LX-3769-80-DKXAHWUYT), la Agencia Española de Cooperación Internacional (AECI No. A/4726/06), y CEVIPE (Centre Vinícola del Penedès, España).

BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS

- Aguayo, M., 2002. Estabilización de los vinos: un desafío permanente. *VitiViniCCultura*. 1 (3), 43-50.
- Boittelle, C., M. Mietton-Peuchot y V. Milisic, 2004. Study of new filter granular recyclable media in wine filtration. *International Conference Engineering and Food (ICEF9)*, Montpellier, France, March 7-11, 2004.
- Bradford, M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of proteins utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72, 248-254.
- Chaufer, B., M. Rabiller-Baudry, A. Bouguen, J.P. Labbe, A. Quémerais, 2000. Spectroscopic characterization of zirconia coated by polymers with amine groups. *Langmuir*. 16, 1852-1860.
- Fukuzaki, S.; Urano, H.; Nagata, K. 1996. Adsorption of bovine serum albumin onto metal oxide surfaces. *J. Ferment. Bioenging*. 81, 163-167.
- Giacomelli, C. E.; Avena, M. J.; De Pauli, C. P., 1997. Adsorption of bovine serum albumin onto TiO₂ particles. *J. Colloid Interface Sci.* 188, 387-395.
- Gump, B. M.; Huang, C. F. 1999. Removal of unstable protein in grape juice and wine by adsorbents resins. California Agricultural Technology Institute (CATI) Publications # 990402, April.
- Hoj, P.B., D.B. Tattersall, K. Adams, K.F. Pocock, Y. Hayasaka, R. van Heeswijck, and E. J. Waters, 2000. The 'Haze Proteins' of wine – A summary of properties, factors affecting and the amount of bentonite required for their removal from wine. Proceedings of ASEV 50th Anniversary Meeting, Seattle, Washington, USA, *Am. J. Enol. Vitic.* 51 (5), 149-154.
- Hughes-Wassell, D. T.; Embery, G. 1996. Adsorption of bovine serum albumin onto titanium powder. *Biomaterials* 17, 859-864.
- Marchal, R., Marchal-Delahaut, L., Michels, F. 2002. Use of Wheat Gluten as Clarifying Agent of Musts and White Wines, *Am. J. Enol. Vitic.* 53(4), 308-314
- Moine-Ledoux, V.; Dubourdieu, D. 1999. An invertase fragment responsible for improving the protein stability of dry white wines. *J. Sci. Food Agric.* 79, 537-543.
- Pachova, V., M. Ferrando, C. Güell, F. López, 2002. Protein adsorption onto metal oxide materials in white wine model systems. *J. Food Sci.* 67 (6), 2118-2121.
- Pashova, V., C. Güell y F. López, 2004a. White wine continuous protein stabilization by packed column. *J. Agric. Food Chem.* 52, 1558-1563.
- Pashova, V., Güell, C., Pueyo, E., López-Barajas, M., Polo, M.C., López, F. 2004b. White Wine Protein Stabilization by a Continuous Process Using a Packed Column, *Am. J. Enol. Vitic.* 55(2), 195-198.
- Powers, J.R., Nagel, C.W., Weller K. 1988. Protein removal from a wine by immobilized grape proanthocyanidins, *Am. J. Enol. Vitic.* 39 (2), 117-120
- Puig-Deu, M., E. Lopez-Tamames, S. Buxaderas y M.C. Torre-Boronat, 1996. Influence of must racking and fining procedures on the composition of white wine. *Vitis* 35 (3), 141-145.
- Salazar, F.N.; Achaerandio, I.; Labbé, M.A.; Güell, C.; López, F., 2006. Comparative study of protein stabilization in white wine using zirconia and bentonite: physicochemical and wine sensory analysis, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(26), 9955-9958
- Salazar, F. N.; de Bruijn, J. P. F.; Seminario, L.; Güell, C.; López, F. 2007. Improvement of wine crossflow microfiltration by a new hybrid process. *J. Food Eng.* 79(4), 1329-1336.
- Sarmiento, M.R., Oliveira, J.C., Slatner, M., Boulton, R.B. 2001. Effect of ion-exchange adsorption on the protein profiles of white wine. *Food Sci. Technol. Int.* 7 (3), 217-224.
- Sarmiento, M. R.; Oliveira, J. C.; Boulton, R. B. 2000. Selection of low swelling materials for protein adsorption from white wines. *Int. J. Food Sci. Technol.* 35, 41-47.
- Vicenzini, S., M. Polesani, A. Curioni, 2005. Removal of specific protein components by chitin enhances protein stability in a white wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 56 (3), 246-254.
- Waters, E.J., G. Alexander, R. Muhlack, K.F. Pocock, C. Colby, B.K. O'Neill, P.B. Hoj, and P. Jones. 2005. Preventing protein haze in bottled white wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 11, 215-225.
- Wcetail, H.H., J.T. Zelko y L.F. Bailey, 1984. A new method for the stabilization of white wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 35 (4), 212-215.

PROPRIEDADES DIELÉTRICAS DO FEIJÃO VERDE (*Vigna unguiculata* (L) Walp) COZIDO E “IN NATURA”

MEDEIROS, P.V.D^{1*}, MATA, A.L. de M. L.¹; MATA, W²; MEDEIROS, M.F.D¹, MOIA JÚNIOR, M. da S¹.

¹UFRN – Centro de Tecnologia – Departamento de Engenharia Química

²UFRN - Centro de Tecnologia – Departamento de Engenharia Elétrica

Av. Senador Salgado Filho, 3000 - Campus Universitário CEP 59.072-970 - Natal/RN – Brasil.

Telefone: (55 84) 3215-3769 – Fax: (55 84) 3215-3770

E-mail: priscila@eq.ufrn.br^(1*).

Keywords; propriedades dielétricas; aquecimento por microondas, feijão verde.

RESUMO

O grande interesse atual em propriedades dielétricas de produtos e materiais agrícolas está embasado principalmente em prever taxas de aquecimento, descrevendo, assim, o comportamento destes materiais sob o efeito das microondas. As propriedades dielétricas variam com a composição da substância, com a temperatura e a frequência. A água é o constituinte presente em maior quantidade na maioria dos alimentos; assim sendo, suas propriedades dielétricas também determinam, em grande parte, as propriedades dielétricas dos alimentos. O conhecimento destas propriedades é útil na utilização de fornos de microondas, na seleção da embalagem do material e no desenvolvimento de alimentos. O objetivo deste trabalho foi determinar as propriedades dielétricas do feijão verde (*Vigna unguiculata* (L) Walp) in natura e cozido, estimando suas respectivas constantes dielétricas e fatores de perda com relação à frequência e temperatura. Este produto é bastante consumido pela população da região Nordeste do Brasil e enfrenta dificuldades de conservação devido a sua perecibilidade. O material utilizado para a realização dos experimentos foi o feijão verde in natura e cozido, adquirido no comércio local (CEASA-RN). Suas propriedades dielétricas foram determinadas, tomando como referência as suas constantes dielétricas (ϵ') e fatores de perdas dielétricas (ϵ''), sendo estimados em função da frequência (faixa de 1 GHz a 3 GHz) e da temperatura (faixa de 26°C a 97°C), visto que as características do material evoluem durante o aquecimento. Quanto maior a porcentagem de água em sua composição, melhores desempenhos esses alimentos terão no processo de aquecimento dielétrico, pois a água, cujos valores de ϵ' e ϵ'' são norteadores para o estudo, possui grande capacidade para absorver e transmitir energia eletromagnética. Os resultados obtidos mostram-se satisfatórios, onde se observa que as amostras de feijão verde estudadas apresentam uma boa capacidade em transmitir e absorver energia na forma eletromagnética.

INTRODUÇÃO

O feijão verde (*Vigna unguiculata* L. Walp) é considerado um dos pratos mais tradicionais da mesa nordestina, tanto no campo como nas grandes cidades. Todavia, por se tratar de um produto sazonal, fora do período de safra o seu preço elevado torna o consumo proibitivo para a grande maioria da população. Por outro lado, por se tratar de um produto de alta perecibilidade, sua produção desordenada na safra, é parcialmente desperdiçada. Desta forma, se faz necessário realizar estudos sobre técnicas de conservação do feijão verde, que permitam o seu armazenamento e viabilize o aproveitamento e distribuição da produção durante todo o ano, independente da safra (MEDEIROS, 2004).

Uma técnica que vem despertando interesse na indústria e entre os pesquisadores, visando a maior qualidade dos produtos, é o uso das microondas na secagem. A secagem de alimentos em secador a microondas implica em interações entre o campo eletromagnético associado às microondas e os componentes

dipolares ou cargas do alimento, formados principalmente pela água. As vantagens oferecidas pelas microondas incluem rapidez da operação, economia de energia e controle preciso do processo (MONZÓ-CABRERA *et al*, 2000)

A energia de microondas é uma fonte ímpar de energia porque produz calor dentro dos materiais processados. Esta propriedade resulta em tempos de processamento mais curtos, maior rendimento do produto final e usualmente em uma qualidade superior no produto comparado ao obtido com técnicas convencionais de processamento (DECAREAU & PETERSON, 1986).

O conhecimento das propriedades dielétricas é vantajoso em estudos e desenvolvimento de processos ou técnicas envolvendo aquecimento por energia eletromagnética. As Propriedades dielétricas relacionadas com temperatura e frequência tem sido estudadas para diferentes produtos agrícolas, incluindo grãos e sementes, frutas e vegetais, sucos e vinhos, alimentos cozidos e farinhas, peixes e carnes, entre outros (RAGNI *et al*, 2007).

O Aquecimento de alimentos por frequência de rádio ou microondas tem sido estudado desde o início dos anos 40 (DECAREAU, 1985 apud LING *et al*, 2005).

O grande interesse em propriedades dielétricas de produtos e materiais agrícolas está embasado principalmente em prever taxas de aquecimento, descrevendo, assim, o comportamento destes materiais sob o efeito das microondas. A influência das propriedades dielétricas no aquecimento de materiais ocorre através da absorção de energias originadas do aquecimento dielétrico em frequências de rádio, altas frequências ou microondas, tem sido conhecida há bastante tempo e suas principais aplicações em potencial tem sido investigadas (RAGHAVAN E VENKATESH, 2004).

As propriedades dielétricas de alimentos são importantes no estudo e modelagem do comportamento dos alimentos no campo de frequência de rádio e microondas. Essas propriedades nesses materiais determinam a interação entre matérias alimentícias e energia eletromagnética e são fatores chave na determinação da eficiência do aquecimento por frequência de rádio e por microondas. As propriedades dielétricas dos materiais são interessantes para várias aplicações e podem ser definidas em termos de sua permissividade relativa (ϵ) (i.e. $\epsilon = \epsilon' - j\epsilon''$), onde a parte real (ϵ') é a constante dielétrica e a parte imaginária (ϵ'') é o fator de perdas dielétricas. A constante dielétrica (ϵ') está relacionada com a capacidade de dissipação de energia elétrica no material enquanto que o fator de perdas dielétricas (ϵ'') está associado com o potencial de absorção de energia elétrica pelo material (LING *et al*, 2005).

As propriedades dielétricas da maioria dos materiais são influenciadas por diversos fatores. Em materiais higroscópicos como os produtos agrícolas, a quantidade de água presente no material é geralmente o fator dominante. As propriedades dielétricas dependem da frequência do campo elétrico aplicado.

da temperatura, densidade, composição e estrutura do material do material (RAGHAVAN E VENKATESH, 2004; RAGNI *et al.*, 2007).

O conhecimento destas propriedades é útil na utilização de fornos de microondas, na seleção da embalagem do material e no desenvolvimento de alimentos. O objetivo deste trabalho foi determinar as propriedades dielétricas do feijão verde (*Vigna unguiculata (L) Walp*) in natura e cozido, estimando suas respectivas constantes dielétricas e fatores de perda com relação à frequência e temperatura, tendo em vista que este produto é bastante consumido pela população da região Nordeste do Brasil e enfrenta dificuldades de conservação devido a sua pericibilidade.

MATERIAL E MÉTODOS

O material utilizado para a realização dos experimentos foi o feijão verde in natura e cozido, adquirido no comércio local (CEASA-RN). As duas amostras de feijão verde foram trituradas, em um processador doméstico, para se obter uma pasta mais homogênea e uniforme de maneira que facilitasse a leitura das propriedades dielétricas. Para realização dessas medidas utiliza-se uma sonda do medidor de permissividade complexa do material. A água e o ar são utilizados inicialmente como padrões de medida e calibragem do equipamento, pois os valores de suas propriedades são conhecidos na literatura.

Para realização dos experimentos, utilizou-se o seguinte aparato experimental: Forno microondas doméstico, Termopar, Sonda tipo HP 85070 para medição de permissividade complexa, fabricada pela Agilent Technologies, analisador de redes da HP e microcomputador para aquisição on line dos dados de medição da permissividade complexa.

Foram realizados experimentos de aquecimento eletromagnético na faixa de frequência de microondas de 1GHz a 3 GHz, incluindo a frequência utilizada nos fornos de microondas que é de 2,45 GHz.

O procedimento experimental consistia das seguintes etapas:

- Medir a temperatura da água antes da calibração;
- Calibrar o equipamento de medição com água e com ar;
- Realizar a medida de permissividade da água para verificação de calibração a 25°C;
- Colocar em torno de 50 g do alimento, depois de triturado, dentro de um pequeno recipiente em vidro;
- Medir a temperatura e a permissividade inicial do alimento;
- Para medir a permissividade complexa ($\epsilon = \epsilon' - j\epsilon''$), é utilizada uma sonda com contato apenas na superfície do alimento;
- A temperatura é registrada e a medição é realizada com aquisição *on line*;
- O recipiente é aquecido durante intervalos de tempo pré-fixados de forma que a temperatura da amostra não ultrapasse 100°C.

As medidas realizadas foram da permissividade complexa do feijão verde cozido e in natura.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As figuras 1 e 2 apresentam uma comparação da constante dielétrica (ϵ') para o feijão verde cozido e o feijão verde *in natura* em função da frequência e da temperatura.

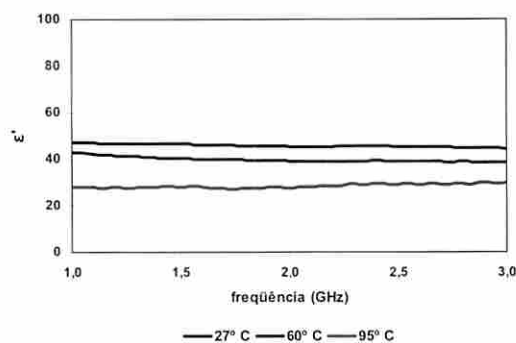


Figura 1. Constante dielétrica (ϵ') do feijão verde cozido.

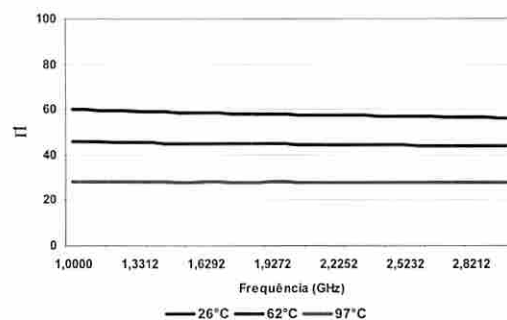


Figura 2. Constante dielétrica (ϵ') do feijão verde *in natura*.

Através da análise das Figuras 1 e 2, verifica-se que, em relação ao comportamento da constante dielétrica (ϵ'), as amostras de feijão verde contém um alto teor de água em sua composição visto que suas isotermas apresenta comportamento similar ao da água que é em torno de 80 F/m a 25 °C. As constantes dielétricas (ϵ') para o feijão verde cozido e *in natura* foram respectivamente, 47,07 F/m e 60,24 F/m, no processo inicial. Com essas informações, pode-se concluir que são bons materiais tanto em transmitir quanto em absorver energia eletromagnética, a qual será posteriormente convertida em energia térmica, ou seja, calor. A água é retratada na literatura como um material de excelente desempenho no tocante a aquecimento eletromagnético.

Em relação ao aumento da frequência aplicada, houve uma pequena queda em sua capacidade de transmitir energia eletromagnética, podendo "essa" capacidade ser descrita como resistência oferecida pela estrutura do material quanto a passagem de energia eletromagnética em seu interior.

Tanto para o feijão verde cozido quanto para o feijão verde *in natura* foi observado que as constantes dielétricas diminuiram com o aumento da temperatura, revelando que à medida que se eleva a temperatura, as suas capacidades em transmitir onda eletromagnéticas torna-se cada vez maior, visto que a constante dielétrica caracteriza tal habilidade e o ar, por exemplo, tem constante dielétrica igual a 1,0 F/m.

As figuras 3 e 4 apresentam uma comparação do fator de perda (ϵ'') para a água, o feijão verde cozido e o feijão verde *in natura* em função da frequência e da temperatura.

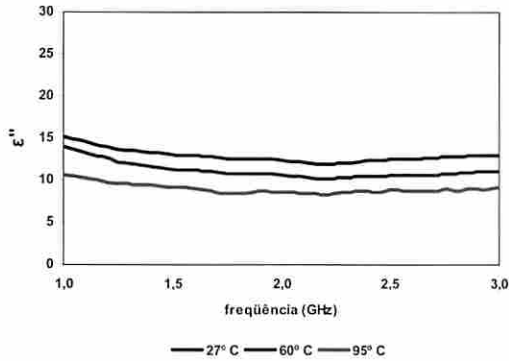


Figura 3. Fator de perdas dielétricas (ϵ'') do feijão verde cozido.

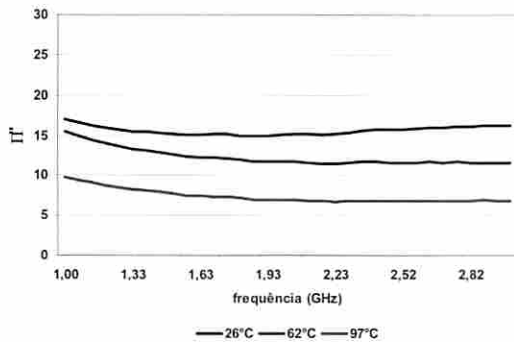


Figura 4. Fator de perdas dielétricas (ϵ'') do feijão verde *in natura*.

Analisando-se as figuras 3 e 4, observa-se que, em relação ao comportamento do fator de perdas dielétricas (ϵ''), há uma queda na habilidade de absorver energia eletromagnética com relação ao aumento da frequência aplicada nas amostras de feijão verde cozido e *in natura* até aproximadamente 2,23 GHz. Após esse valor, percebe-se uma tendência desse fator a tornar-se constante ou ligeiramente crescer.

Quanto à elevação da temperatura, verifica-se uma discreta redução no fator de amortecimento, constatando-se que a amostra feijão verde retém cada vez menos calor.

Discutindo sobre a habilidade em absorver energia eletromagnética, como foi citada anteriormente, é sabido que tal habilidade é descrita pelo comportamento do fator de perdas dielétricas com relação à temperatura e à frequência aplicada. Tomando por base as Figuras 3 e 4, percebe-se que as amostras de feijão verde apresentam similaridades em seus comportamentos sob influência de campo eletromagnético, e que o fator de perdas diminui com a temperatura, em outras palavras, a absorção de energia eletromagnética pelo material torna-se cada vez menor com o aumento da temperatura.

De uma maneira geral, os fatores de perdas dielétricas (ϵ'') para o feijão verde cozido e *in natura* foram, respectivamente, 15,09 F/m e 16,96 F/m, no processo inicial, apresentando, assim, um bom desempenho no processo de aquecimento dielétrico.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho ajudam na compreensão dos fenômenos físicos de transformação de energia eletromagnética em térmica, mostrando-se satisfatórios aos encontrados na literatura, onde se constata que tanto o feijão verde cozido quanto *in natura* apresentam características dielétricas próximas às da água, tendo uma boa capacidade de transmitir e absorver, proporcionalmente, energia eletromagnética quando submetida às ondas eletromagnéticas em um forno de microondas.

Quanto maior a porcentagem de água em sua composição, melhores desempenhos esses alimentos terão no processo de aquecimento dielétrico, pois a água dispõe de uma grande habilidade em absorver energia eletromagnética.

Quanto maior a temperatura aplicada sobre as amostras de feijão verde cozido e *in natura*, menor será a sua capacidade em absorver energia eletromagnética.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DECAREAU, R. V.; PETERSON, R.A. Microwave processing and engineering. Chichester: Ellis Horwood, 1986. 224p.
- LYNG, J.G., ZHANG, L., BRUNTON, N.P. A survey of the dielectric properties of meats and ingredients used in meat product manufacture. *Journal of Food Engineering*. v. 69., p. 589-602. 2005
- MEDEIROS, U.K.L de. Estudo da secagem do feijão verde (*Vigna unguiculata* L. Walp) – análise experimental de processo combinado leito fixo/leito de jorro. 2004. 128p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Centro de Tecnologia, Departamento de Engenharia Química. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.
- MONZÓ-CABRERA, J., DÍAZ-MORCILLO, A., CATALÁ-CIVERA, J., M. & DE LOS REYES, E. Heat and Mass Transfer Characterisation of Microwave Drying of Eláter. In *Drying'00*, 27, 2000.
- RAGHAVAN, G.S.V. e VENKATESH, M.S. An overview of microwave processing and dielectric properties of agri-food materials. *Biosystems Engineering*. 88(1). p.1-18. 2004.
- RAGNI, L., AL-SHAMI, A., MIKHAYLENKO, G. TANG, J. Dielectric characterization of hen eggs during storage. *Journal of Food Engineering*. v. 82., p. 450-459. 2007

INFLUENCIA DEL CONTENIDO DE LEVADURAS EN LA INACTIVACIÓN DE CINCO CEPAS DE *E. COLI* O157:H7 INOCULADAS EN JUGO DE NARANJA EXPRIMIDO TRATADO CON RADIACIÓN UV

Oteiza, Juan Martín.¹; Giannuzzi, Leda¹ y Zaritzky, Noemí^{1,2}

¹ Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA), CONICET - Fac. Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata. Argentina Tel/Fax: (54-221) 425-4853/ 424-9287. ² Fac. de Ingeniería. Universidad Nacional de La Plata. Calle 47 y 116 (1900). La Plata. Argentina. E-mail= jmoteiza@cidca.org.ar

Palabras clave: Radiación ultravioleta, *E. coli* O157:H7, jugo de naranja, concentración de levaduras, modelos matemáticos.

RESUMEN

Se analizó el efecto del contenido de levaduras en la inactivación de 5 cepas de *E. coli* O157:H7 de distinto origen inoculadas en jugo de naranja exprimido ya sea individualmente o en forma combinada. Se utilizó el jugo de naranjas variedad Valencia, almacenado a 20°C hasta alcanzar diferentes rangos de concentraciones de levaduras. Se determinaron los coeficientes de absorptividad de dichos jugos. Los ensayos con UV se realizaron con dosis entre 0 y 2 J/cm². Se emplearon diferentes modelos matemáticos con el objeto de determinar cual de ellos presentaba el mejor ajuste a los datos experimentales.

Los coeficientes de absorptividad del jugo de naranja, aumentaron con el incremento de la concentración de levaduras presentes en el mismo. Para el caso de cepas inoculadas en forma individual, la cinética de inactivación por UV fue ajustada con un modelo lineal logarítmico. Se determinó que los valores de *D* (Dosis de UV necesaria para reducir un log la población bacteriana) aumentaban con el nivel de levaduras presentes en el jugo. Para el caso de las cepas de *E. coli* O157:H7 inoculadas en forma combinada, el modelo logístico fue el que mejor representó los datos experimentales. Con la aplicación de dosis de UV elevadas, la mezcla de cepas presentó una mayor resistencia a la radiación que la cepa individual más tolerante al UV inoculada en jugo de naranja, lo que indica la importancia del empleo de mezcla de cepas en este tipo de experimentos en lugar del empleo de cepas individuales. El contenido de levaduras y el empleo de cepas inoculadas en forma combinada, son factores importantes para poder determinar las dosis necesarias de UV para lograr reducciones de 5D recomendadas por la FDA en jugos de naranja exprimido.

INTRODUCCIÓN

Escherichia coli O157:H7 ha sido responsable de varios brotes asociados con el consumo de frutas y jugos de fruta, lo que demuestra la capacidad de este microorganismo de sobrevivir en alimentos antiguamente considerados seguros por su acidez (Wright y col, 2000). Para reducir el riesgo potencial en la salud pública asociado al consumo de jugos de fruta y vegetales contaminados, en el 2002, la FDA propuso la implementación de un plan de HACCP en la etapa de producción de jugos y derivados. Dicho plan, acepta la aplicación de tratamientos alternativos a la pasteurización que sean capaces de reducir en 5 ciclos logarítmicos, los microorganismos patógenos asociados a cada producto. Uno de los métodos no térmicos para extender la vida útil de jugos de fruta es el empleo de radiación no ionizante ultravioleta, UV-C. Dentro de las características del alimento a irradiar que deben ser tenidas en cuenta a la hora de elegir las dosis de UV necesarias para eliminar microorganismos patógenos, se encuentra la absorptividad del medio, definida como la constante de proporcionalidad entre la absorbancia del alimento (medida a 254 nm) y la concentración. La presencia de levaduras en el jugo de naranja, la cual constituye gran parte de la flora natural del mismo, es uno de los factores que podrían afectar a la absorptividad. Una mayor absorptividad del medio disminuye la eficiencia de la radiación UV sobre la flora microbiana (Oteiza y col, 2005). En 1997 un panel especializado de la Agencia de Protección Ambiental (EPA), recomendó para el caso de microorganismos patógenos, la utilización de diversas cepas inoculadas en forma de

“cocktail”. Es decir en forma combinada, para analizar la resistencia a su inactivación.

Los objetivos de este trabajo fueron: analizar y modelar matemáticamente el efecto de la radiación UV sobre 5 cepas de *E. coli* O157:H7 inoculadas en jugo de naranja exprimido, conteniendo diferentes concentraciones de levaduras, ya sea en forma individual o en forma combinada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención del jugo.

Se utilizaron naranjas frescas variedad Valencia, decontaminadas externamente con agua clorada y exprimidas en un ambiente estéril. El pH del jugo fue determinado con un electrodo y un medidor de pH (modelo EC30, Hach). El índice de refracción y el contenido de azúcares (“Brix”) fue determinado con un refractómetro (Bellingham). Posteriormente, el jugo se almacenó fraccionado a 20°C de manera de alcanzar diferentes rangos de concentraciones de levaduras comprendidos entre $1.0 \times 10^1 - 5.0 \times 10^2$; $5.1 \times 10^3 - 8.0 \times 10^4$ y $8.1 \times 10^4 - 2.0 \times 10^6$ UFC/ml, los cuales fueron determinados por recuento en placa en Glucosa, Extracto de levadura, Cloranfenicol agar (YGC) incubando las placas durante 5 días a 25°C. Asimismo se determinaron los coeficientes de absorptividad del jugo conteniendo diferente concentración de levaduras, con un espectrofotómetro (DU 650, Beckman). La pendiente de la regresión obtenida correlacionando la absorbancia del alimento medida a 254 nm y su concentración (% Vol/Vol) fue considerada como el coeficiente de absorptividad.

Preparación del inóculo.

Se emplearon 5 cepas de *E. coli* O157:H7 de diferente origen (cedidas por la Dra. Marta Rivas, ANLIS, “Dr. Carlos G. Malbrán”): 33/98 (origen animal), 303/00 (origen embutido fresco), 749/03 (origen hamburguesa), 547/03 (origen humano) y EDL 933 (ATCC, origen hamburguesa). Los cultivos se mantuvieron en forma individual en Agar Tripton Soja (ATS) a 4°C. Se transfirió una ansada del cultivo a un tubo conteniendo 10 ml de Caldo Tripton Soja (CTS, 37°C 18-24 h). Posteriormente, 1ml se transfirió a 100ml de CTS (37°C, 18h con agitación).

Estudios de inactivación por UV empleando cepas de *E. coli* O157:H7 inoculadas individualmente.

Un ml de cada uno de los cultivos fue inoculado en forma individual en botellas estériles conteniendo 99 ml de jugo de naranja exprimido conteniendo diferentes concentraciones de levaduras, de manera de lograr niveles bacterianos de 6.0 log UFC/ml. En todos los casos, previo a los ensayos con UV, se determinaron los recuentos iniciales de *E. coli*. (ATS, 37°C, 24h) Dicho valor (en UFC/ml) se consideró como el inicial (N_0).

Estudios de inactivación por UV empleando cepas inoculadas en forma combinada.

Cien µl de cada uno de los cultivos, se combinaron en un tubo conteniendo 10ml de CTS de manera de crear la mezcla. Noventa y nueve ml de jugo de naranja exprimido conteniendo dos concentraciones de levaduras (entre $1.0 \times 10^1 - 5.0 \times 10^2$ y entre $1.0 \times 10^4 - 2.0 \times 10^6$ UFC/ml) fueron inoculadas con 1ml de la mezcla de cepas de manera de lograr niveles de inóculo de 6 log UFC/ml.

Aplicación de Tratamiento con radiación UV.

Para el tratamiento con UV, se utilizó un equipo construido para tal fin, el cual cuenta con 4 lámparas de UV germicida (254 nm, UV Lux 30W/G30 T8) de baja presión de vapor de mercurio. Para cada ensayo, 5 ml de las muestras previamente inoculadas (individualmente o en forma combinada), se colocaron en placas de Petri de 9cm de diámetro, de manera de lograr espesores de película a irradiar de 0.7mm. Se ensayaron diferentes dosis de radiación UV entre 0 y 2 J/cm² (medidas con un radiómetro digital, modelo VLX-3W CE). Las muestras se mantuvieron en agitación permanente (220 rpm). Se empleó ATS (48 hs a 37°C) como medio de cultivo para el recuento de las bacterias sobrevivientes. Todos los ensayos se realizaron por duplicado, empleando el software Systat para determinar diferencias significativas entre los tratamientos.

Modelado Matemático.

En todos los casos ensayados se probaron los siguientes modelos matemáticos con el objeto de determinar cual de ellos describe adecuadamente los datos experimentales. Se calcularon los valores de los MSE y r² para cada modelo.

Modelo Lineal Logarítmico: Determinado por la expresión:

$$\log(N/N_0) = -kE \quad (1)$$

donde N corresponde al recuento microbiano a la dosis E= I x t, siendo I la intensidad de radiación (mW/cm²) y t el tiempo de tratamiento (min) N₀ al recuento microbiano inicial antes del tratamiento con UV, N/N₀ a la fracción de microorganismos sobrevivientes, E a la dosis de UV aplicada (Joule/cm²) y k a la constante de inactivación.

Ecuación Logística: determinada por la expresión:

$$\log N = \log N_0 / 1 + (E/E_0)^b \quad (2)$$

donde log(N) y log(N₀) corresponden a los logaritmos de la población microbiana a dosis E y 0 respectivamente, b es un parámetro adimensional, E es la dosis de radiación UV (Joule/cm²) y E₀ es la dosis que produce una disminución en la población microbiana de valor logN = logN₀/2.

Distribución de Weibull: descripta por Peleg y col (1988), cuya expresión es:

$$\log(N/N_0) = -WE^n \quad (3)$$

donde W y n son factores de escala y de forma respectivamente. El factor n describe la pendiente de la curva de sobrevivientes, cuando n<1 dicha curva toma forma cóncava para arriba, cuando n>1 cóncava para abajo y cuando n=1 es una línea recta en escala logarítmica.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El jugo de naranja exprimido presentó en promedio las siguientes características: pH: 3.64, índice de refracción: 1.38 y °Brix: 13.10. Ninguno de estos valores se vio modificado durante el tratamiento con radiación UV. Los jugos de naranja conteniendo diferente niveles de levaduras presentaron los coeficientes de absorptividad que se indican en la Tabla 1. Puede observarse que dichos coeficientes aumentan con el incremento de la concentración de levaduras presentes en el jugo de naranja. En todos los casos la diferencia observada fue significativa (p<0.05).

Tabla 1: Efecto de la concentración de levaduras presentes en el jugo de naranja en los coeficientes de Absorptividad obtenidos regresionando la absorbancia del alimento medida a 254 nm y su concentración (% Vol/Vol).

Rango de levaduras en el jugo de naranja (UFC/ml)	Coefficiente de Absorptividad
1.0x10 ³ – 5.0x10 ²	0.6371 ± 0.0155
5.1x10 ³ – 8.0x10 ⁴	0.7315 ± 0.0104
8.1x10 ³ – 2.0x10 ⁶	0.8206 ± 0.0182

Efecto de la concentración de levaduras en la efectividad del UV sobre cepas de E.coli O157:H7 inoculadas individualmente.

Para el caso de cepas de E.coli O157:H7 inoculadas individualmente en jugo de naranja, los mejores resultados se obtuvieron cuando los datos experimentales fueron ajustados con el modelo lineal logarítmico (Ec. 1). Los coeficientes de

determinación (r²), variaron entre 0.989 y 0.994. Para cada cepa estudiada se calcularon los valores de D (dosis de UV necesaria para lograr disminuciones del 90% en la población microbiana, D = 1/k). La Tabla 2 muestra dichos valores para cada una de las 5 cepas de E.coli inoculadas individualmente en jugo de naranja conteniendo diferentes concentraciones de levaduras. Para todas las cepas estudiadas, los valores de D aumentaron con el incremento de la concentración de levaduras presentes en el jugo. Este efecto está relacionado con el aumento en los valores de absorptividad a medida que aumenta la concentración de levaduras en el jugo (Tabla 1). Las células de levaduras son de mayor tamaño que las bacterias, así, la presencia de éstas en los jugos puede afectar la absorptividad del sistema, variando la efectividad del tratamiento UV (Guerrero-Beltrán et al, 2004). Por otra parte, la resistencia a la radiación UV fue variable según la cepa ensayada. Si se comparara la sensibilidad de la cepa 303/00 (la más resistente al tratamiento) con respecto a la 33/98 (la más sensible) inoculadas en jugo de naranja con niveles de levaduras entre 1.0x10³–5.0x10², podemos observar que la cepa 303/00 es entre un 67.0-84.5% mas resistente que la cepa 33/98.

Tabla 2: Valores de D (dosis de UV necesaria disminuir el 90% de la población microbiana, D = 1/k) obtenidos para las diferentes cepas de E. coli O157:H7 inoculadas individualmente en jugo de naranja exprimido con diferentes concentraciones de levaduras. Los valores entre paréntesis corresponden al error estándar de D.

Cepa inoculada de E. coli O157:H7	Concentración de levaduras presentes en el jugo de naranja (UFC/ml)		
	1.0x10 ³ –5.0x10 ²	5.1x10 ³ –8.0x10 ⁴	8.1x10 ³ –2.0x10 ⁶
303/00	0.296 (0.008)	0.358 (0.001)	0.418 (0.001)
749/03	0.169 (0.003)	0.244 (0.0003)	0.278 (0.001)
547/03	0.210 (0.0003)	0.280 (0.001)	0.327 (0.0004)
33/98	0.168 (0.004)	0.235 (0.0004)	0.275 (0.001)
EDL 933	0.212 (0.0003)	0.298 (0.0005)	0.346 (0.001)

Según la reglamentación sugerida por la FDA, la utilización de tratamientos alternativos a la pasteurización deben ser capaces de lograr reducciones de 5 ciclos logarítmicos (5D) en los microorganismos patógenos asociados con cada producto. En este caso si se calculan dichos valores para la cepa más resistente de E. coli O157:H7 inoculada en jugo de naranja con niveles de levaduras entre 1.0x10³–5.0x10², dicho valor es de 1.48 J/cm². Sin embargo con niveles de levaduras entre 8.1x10³– 2.0x10⁶ y empleando las mismas condiciones de radiación UV, solo se lograrían reducciones de 3.54 log de la misma cepa, lo cual sería de gran riesgo para la salud ya que la dosis infectiva de este microorganismo es muy baja (cerca de 100 células).

Se observó una relación lineal (r²=0.982) entre los valores de absorptividad de los jugos y los niveles de levaduras presentes en el mismo. Asimismo se determinó que existe una relación lineal entre los valores de absorptividad y los D para cada una de las cepas ensayadas. En todos los casos se lograron coeficientes de correlación entre 0.9566 y 0.9983.

Efecto de la concentración de levaduras en la efectividad del UV sobre cepas de E.coli O157:H7 inoculadas en forma combinada.

La inactivación por UV de las cinco cepas de E.coli O157:H7 inoculadas en forma combinada, en función de la dosis de UV aplicada, se desvió de la ecuación lineal logarítmica empleada para el caso de las cepas individuales. De los modelos matemáticos analizados, el modelo logístico fue el que mejor representó los datos experimentales (obteniéndose los mayores valores de r², entre 0.998-0.999, y los menores valores de desvío estándar, entre 0.017-0.05). Los parámetros del modelo propuesto fueron ajustados obteniendo valores de desvíos estándar pequeños.

La Tabla 3 muestra los parámetros obtenidos luego de aplicar el modelo logístico a los datos experimentales.

Con el objeto de comparar la resistencia al UV de las cepas de *E. coli* O157:H7 inoculadas en forma individual con la resistencia de las cepas inoculadas en forma combinada, se calculó la derivada primera de la ecuación logística (Ecuación 2) con respecto a los valores de dosis (E), la misma toma la siguiente forma:

$$d(\log N)/dE = (-\log N_0 (E_i)^b b (E)^{b-1}) / (1+(E/E_i)^b)^2 \quad (4)$$

La pendiente fue determinada a diferentes valores de E/Ei.

Tabla 3: Efecto de la concentración de levaduras, en los parámetros de la ecuación logística, sobre cepas de *E. coli* O157:H7 inoculadas en forma combinada en jugo de naranja.

Concentración de levaduras presentes en el jugo de naranja	Parámetros de la ecuación logística		
	Log N ₀ (log UFC/ml)	b	E _i (J/cm ²)
AL	6.93±0.21	0.69±0.06	0.99±0.11
AL	6.79±0.13	0.76±0.05	1.45±0.08
BL	6.86±0.20	0.86±0.05	0.41±0.04
BL	6.81±0.14	0.95±0.05	0.58±0.04

Concentración de levaduras = AL: entre 8.1x10⁸ - 2.0x10⁹ UFC/ml, BL: entre 1.0x10¹ - 5.0x10² UFC/ml, Ei: dosis de UV para la cual logN=logNo/2.

Para el caso en donde E/Ei=1 la pendiente se calculo a partir de la siguiente expresión: $d(\log N)/dE|_{E=E_i} = -\log N_0 b/4E_i$ (5)

Dicha pendiente corresponde al valor de dosis E=Ei que produce una disminución en la población microbiana determinada por: log N= log N₀/2. Los valores correspondientes a las pendientes calculadas para E/Ei=1, se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4: Comparación de las pendientes d(logN/dE) calculada para E/Ei= 1, derivada del modelo logístico obtenido en experimentos empleando cepas de *E. coli* O157:H7 inoculados en forma combinada y valores de k (k = 1/D) calculado a partir de la cinética de primer orden, obtenido para las cepas inoculadas en jugo de naranja en forma individual más resistente (303/00) y más sensible (33/98) frente a la radiación UV.

Concentración de levaduras presentes en el jugo (UFC/ml)	Pendiente d(logN/dE) calculada para E/Ei=1(para la mezcla de cepas, empleando el modelo logístico log (UFC/ml)/(J/cm ²))	Valores de k, para cepas de <i>E. coli</i> O157:H7 inoculadas individualmente log (UFC/ml)/(J/cm ²)	
		Cepa 303/00	Cepa 33/98
AL	-1.21	-2.39	-3.63
AL	-0.89	-2.27	-3.27
BL	-3.60	-3.38	-5.95
BL	-2.79	-3.21	-5.25

AL: Alto nivel de levaduras presentes en el jugo (entre 8.1x10⁸- 2.0x10⁹ UFC/ml)

BL: Bajo nivel de levaduras presentes en el jugo (entre 1.0x10¹- 5.0x10² UFC/ml)

Para todos los casos analizados, los mayores valores de pendiente, se observaron para jugos de naranja conteniendo niveles bajos de levaduras. Esto estaría indicando que las levaduras podrían afectar la efectividad de la radiación UV, al incrementar el coeficiente de absorptividad del jugo, lo que resulta en una menor inactivación de la mezcla de cepas.

La Figura 1 (a y b) permite comparar las curvas de inactivación obtenidas para las cepas de *E. coli* mas resistente (303/00) y mas sensible (33/98) al UV inoculadas en jugo de naranja en forma individual, con la resistencia de la mezcla de cepas, bajo la misma concentración de levaduras presentes en el jugo.

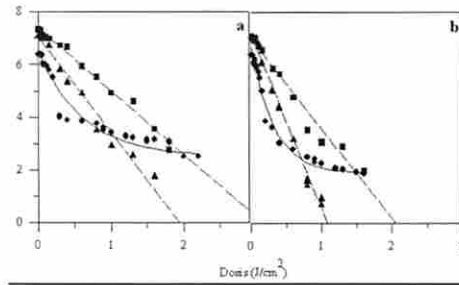


Figura 1: Efecto de la concentración de levaduras en la inactivación por UV de cepas de *E. coli* inoculadas en jugo de naranja exprimido. Concentración de levaduras: entre 8.1x10⁸- 2.0x10⁹ UFC/ml (a) y entre 1.0x10¹- 5.0x10² UFC/ml (b). ●= cepas de *E. coli* O157:H7 inoculadas en forma combinada; ■= cepa 303/00 y ▲= cepa 33/98 inoculadas individualmente. Las líneas continuas corresponden a la aplicación del modelo logístico mientras que las punteadas a la regresión lineal aplicada a las cepas individuales.

Puede observarse que con dosis de UV elevadas, la mezcla de cepas muestra una mayor resistencia a la radiación en comparación con la cepa más resistente inoculada en forma individual (303/00).

Del análisis de la Tabla 4 se desprende que los valores de las pendientes de la mezcla de cepas para E=Ei fueron menores que los valores de k, aún para el caso de la cepa más resistente (303/00), lo que indica la importancia del empleo de cepas inoculadas en forma combinada en este tipo de experimentos en lugar del empleo de cepas individuales. El comportamiento no lineal de la mezcla de cepas de *E. coli* O157:H7 expuestas a la acción de la radiación UV, debe ser analizado teniendo en cuenta diversas consideraciones: La primera exposición por parte de las bacterias a la radiación UV, provoca un daño en el ADN de las células más sensibles, y a medida que la dosis de UV aplicada es mayor, las mutaciones producidas en el ADN bacteriano también son mayores, lo cual impide la replicación celular. La muerte celular ocurre luego de superar un determinado umbral de daños producidos en su ADN. Otra de las consideraciones importantes es que la capacidad que poseen las bacterias de reparar las mutaciones producidas en su ADN como consecuencia de la exposición al UV es variable según la cepa analizada. También es importante considerar poblaciones bacterianas con resistencias al UV diferentes. El empleo de múltiples cepas con resistencia al UV diferente posiblemente puedan provocar el efecto de la aparición de colas (Sommer y col., 2000).

CONCLUSIONES

- 1) Se determinó que los coeficientes de absorptividad de jugo de naranja aumentan con el incremento de la concentración de levaduras presentes en el mismo.
- 2) Para el caso de cepas de *E. coli* O157:H7 inoculadas en jugo de naranja en forma individual, la cinética de muerte por UV se ajustó a un modelo lineal logarítmico.
- 3) Se determinó que los valores de D aumentan con el nivel de levaduras presentes en el jugo, independientemente de la temperatura de tratamiento.
- 4) Se determinó que existe una relación lineal entre los valores de absorptividad de los jugos conteniendo diferentes concentraciones de levaduras y los valores de D.
- 5) Para el caso de cepas de *E. coli* O157:H7 inoculadas en forma de cocktail y tratadas con UV, el modelo logístico fue el que mejor representó a los datos experimentales.
- 6) Los mayores valores de pendiente (d(logN)/dE), se observaron en el caso de jugos de naranja con niveles bajos de levaduras, indicando que las levaduras podrían afectar la efectividad del tratamiento.
- 7) Se demostró la importancia del empleo de cepas de *E. coli* O157:H7 inoculadas en forma combinada para estudios de inactivación por UV en jugos de fruta.

REFERENCIAS:

Guerrero-Beltrán, J.A., Barbosa-Cánovas, G.V., 2004. Review: Advantages and limitations on processing foods by UV light. *Food Science and Technology International* 10, 137-147.
 Oteiza, J.M., Peltzer, M., Gannuzzi, L., Zaritzky N., 2005. Antimicrobial efficacy of UV radiation on *Escherichia coli* O157:H7 (EDL 933) in fruit juices of different absorptivities. *Journal of Food Protection* 68, 49-58.
 Peleg, M., Cole, M.B., 1998. Reinterpretation of microbial survival curves. *Critical Reviews in Food Science* 38, 353-380.
 Sommer, R., Lhotsky, M., Haider, T., Cabaj, A., 2000. UV inactivation, liquid-holding recovery, and photoreactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and other pathogenic *Escherichia coli* strains in water. *Journal of Food Protection* 63, 1015-1020.
 Wright, J.R., Sumner, S.S., Haekney, C.R., Pierson, M.D., Zoeklein, B.W., 2000. Efficacy of ultraviolet light for reducing *Escherichia coli* O157:H7 in unpasteurized apple cider. *Journal of Food Protection* 63, 563-567.

DETERMINACION DE COLOR EN FILETES DE SALMON (*Salmo Salar*) USANDO VIDEO DIGITAL Y ANALISIS DE IMAGENES

Quevedo, Roberto¹ y Aguilera, José Miguel²

⁽¹⁾UNIVERSIDAD DE LOS LAGOS

DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

Casilla 933. E. mail. rquevedo@ulagos.cl

OSORNO – CHILE

⁽²⁾PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE CHILE

DEPARTAMENTO DE INGENIERIA QUIMICA Y BIOPROCESOS

E. mail. jmaguile@ing.puc.cl

SANTIAGO – CHILE

Palabras claves: filetes de salmón, análisis de imagen, color, video

RESUMEN

El avance de la tecnología digital a través de los últimos años, ha permitido la adaptación de nuevas tecnologías de control en línea para el mejoramiento de la calidad de productos procesados. La detección de parámetros físicos (tales como forma, color, etc.) utilizando la tecnología digital de video, se ha vuelto una necesidad en una amplia gama de líneas de productos. En el caso de la industria del salmón, un cluster que genera más de 2000 millones de dólares anualmente en exportaciones en Chile, es sin duda un área donde esta tecnología puede adaptarse fácilmente. El objetivo de este estudio fue la determinación de color en línea de filetes de salmónes, utilizando las técnicas de video, en concordancia con los aspectos sensorial de medición de color (regla Roche). Para los experimentos, se utilizó un sistema de medición conocido como SCAI o sistema de captura de imágenes, adaptado con una cámara de video Canon AS400, conectado en línea a un PC de 3,2 HTD y 2 GB de memoria de capacidad. El SCAI fue calibrado usando datos de parámetros Lab (colorímetro HunterLab) tomadas desde cartas de colores preelaboradas. Los datos de RGB medidos por la computadora fueron transformados a valores Lab, de acuerdo a un modelo cuadrático de ajuste propuesto. Valores de RGB y Lab para la regla Roche, también fueron consideradas durante la calibración. De los resultados obtenidos, se pudo establecer que el SCAI, bajo el sistema de captura propuesto, puede convertir valores desde RGB a valores Lab con un error medio de 1,5 %. En pruebas preliminares con filetes de salmónes, se pudo establecer que el equipo es capaz de discernir en un 90 %, las características de color de filetes de salmónes, cuando estos son discriminados por panelistas expertos mediante la regla Roche.

INTRODUCCIÓN

Chile es uno de los dos grandes exportadores de salmónes en el mundo, alcanzando sus exportaciones por sobre los 2000 millones de dólares anuales. Detrás de esta industria acuícola se mueve un gran potencial de subproductos como por ejemplo lo son la elaboración de filetes de salmón fresco refrigerado o congelado.

El control de calidad de alimentos para productos de exportación, es un sistema que requiere no solo la aplicación de conceptos de calidad solamente sino que además debe retroalimentarse a través de un mecanismo preestablecido. Esto motiva que se generen nuevas tecnologías de apoyo en el control que sean eficientes, rápidas y confiables.

El análisis de imagen a través de los últimos años, ha permitido la adaptación de nuevas tecnologías de control en línea para el mejoramiento de la calidad de productos procesados. La detección de parámetros físicos (tales como forma, color, etc.) utilizando la tecnología digital de video, se ha vuelto una necesidad en una amplia gama de líneas de productos procesados.

Diversas investigaciones han usado el análisis de imágenes para detectar ciertas características de calidad en una serie de distintos alimentos frescos o procesados, por ejemplo en chocolates (Quevedo et al., 2002; Briones y Aguilera, 2005), plátanos (Quevedo et al., 2007), en carnes y pescados (Li et al., 1999; Zheng et al., 2007; Helge-Stien et al., 2007; Forsberg y Guttormsen, 2006), entre otros. En todos estos trabajos se ha demostrado que el análisis de imágenes puede ser utilizado como una herramienta de control de calidad de manera rápida y confiable.

Uno de los parámetros asociados a la calidad de productos salmónidos es el color. El color es medido usualmente a través de instrumentos estándares como en HunterLab o Minolta, entre otros. Además, existen diversos espacios de color que pueden representar el color de un alimento en particular. Por su simplicidad en la medición y por representar la escala que normalmente el sistema visual humano detecta los colores, es el espacio Lab el que se prefiere para alimentos. Los sistemas computacionales normalmente usan el espacio RGB (R para el canal rojo, G para el canal verde y B para el canal azul, cada uno en una escala de 0 a 255 niveles). De allí la necesidad (aunque no obligatoria) de trasladar el espacio de color desde RGB hasta el espacio Lab, tal lo propuesto por León et al., 2006. Otro problema asociado durante la aplicación del análisis de imágenes como herramienta de control de calidad es la captura de imágenes, y la variabilidad inherente del color en un mismo alimento. Esto puede ser corregido por realizar numerosas medidas experimentales y por proponer algoritmos que representen al material que es medido.

El objetivo de este estudio fue la determinación de color en línea de filetes de salmónes, utilizando las técnicas de video, en concordancia con los aspectos sensorial de medición de color (regla Roche).

MATERIALES Y MÉTODOS

Sistema de Medición de Análisis de Imágenes (SCAI). Para los experimentos, se utilizó un sistema de captura de imágenes conocido como SCAI, adaptado con una cámara de video Canon AS400, conectado en línea a un PC de 3,2 HTD y 2 GB de memoria de capacidad. Las imágenes de video (740x480) fueron almacenadas en su formato nativo (AVI). También se tomaron imágenes desde una cámara Cybershop Sonny 3X, cuyos formatos (Tiff) nativo fueron almacenados.

Preparación de la muestra. Filetes de salmón Atlántico fresco, con escamas, proveniente de la empresa Marine Harvest Chile, fueron seleccionados y refrigerados en cajas isotérmicas de 20kg con gelpack para mantener las temperaturas cercanas a 4 °C. Los filetes fueron trasladados a un laboratorio ubicado a 1 hora desde el lugar de muestreo.

Métodos de Medición del Color. Los Filetes fueron puestos dentro del sistema de captura de imágenes, bajo la mira de las cámaras de video, a una distancia de 25 cm. Una secuencia de video de 5 minutos para el caso de tomas de video y diez imágenes de fotos fueron tomadas por cada filete (20 filetes), cada dos días durante un lapso de dos semanas.

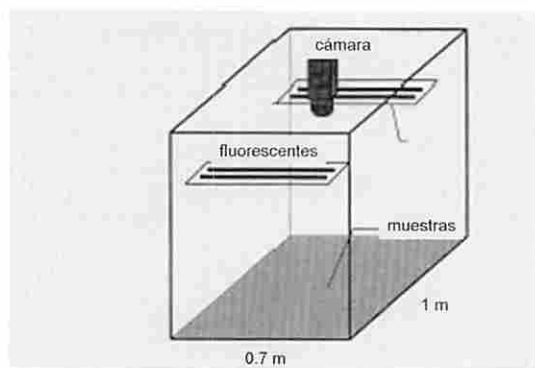


Figura 1.- Esquema Sistema SCAI utilizado en las experiencias.

Calibración del Sistema SCAI. Debido a que el espacio de color utilizado por los sistemas computacionales, es el RGB. El sistema de medición fue calibrado con cartas de color preestablecidos (30 cartas), con valores conocidos de colores del espacio de color Lab. Durante las pruebas de calibración también se utilizaron las cartas SalmoFan – Roche, las cuales asignan un color preestablecido, a un número entre 20 a 34 (Figura 3).

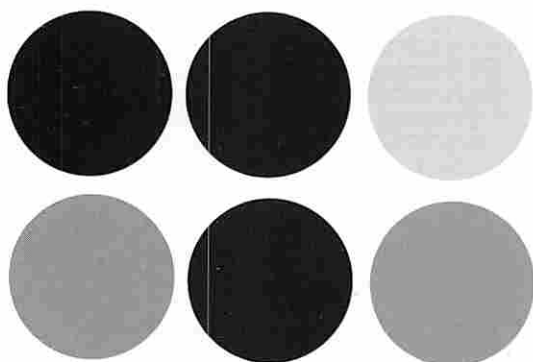


Figura 2. Una Carta de color usada para la calibración del sistema SCAI.



Figura 3.- Carta Roche utilizada para clasificar los filetes de salmón, de acuerdo a un número de color.

El modelo utilizado para convertir los valores RGB (utilizados por el sistema computacional para medir color), a valores Lab; fue el modelo cuadrático propuesto por León *et al.*, (2005). Este modelo es representado por la Ecuación 1 para el parámetro de color L. Similarmente, una ecuación puede ser propuesta para cada valor a y b del espacio de color Lab. Los parámetros de la Ecuación (1), (M_1 , a M_{10}), fueron ajustados por mínimos cuadrados de acuerdo a León *et al.*, (2006). Estos valores se obtienen ajustando dicha ecuación con valores conocidos de Lab. Valores de parámetros fueron obtenidos cada vez que se utilizó el sistema (cada dos días).

$$[L] = [M_1 M_2 M_3 M_4 M_5 M_6 M_7 M_8 M_9 M_{10}] \cdot \begin{bmatrix} R \\ G \\ B \\ RG \\ GB \\ RB \\ R^2 \\ G^2 \\ B^2 \\ 1 \end{bmatrix} \quad (1)$$

Clasificación de filetes de acuerdo al color usando el SCAI.

Filetes de salmón fueron clasificados, usando el equipo de medición SCAI así como por un panel de tres jueces, entrenados por la industria salmonera. Los jueces determinaron el color total de cada filete asignándole un número de acuerdo a la carta Roché (Figura 3).

La medición de color usando el sistema SCAI se realizó en dos etapas preestablecidas: la primera, diseñada para identificar el músculo de filete a través de un algoritmo de segmentación de la imagen capturada de acuerdo a lo propuesto por Helge-Stien *et al.*, (2007); y la segunda diseñada para asignar a cada valor de píxel (que representa al músculo) un valor de acuerdo a la carta Roché (Figura 4).

Como resultado preliminar, se realizó una comparación estadística entre los valores asignados por el panel de jueces y los valores asignados por la computadora para cada filete, a un nivel de 95 % de confianza.

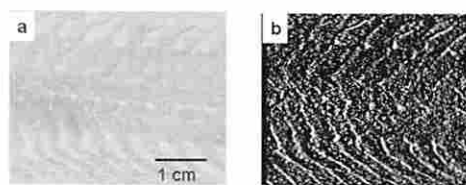


Figura 4.- Imagen de un filete de salmón (a) correspondiente a un valor de clasificación promedio de 22 medido por SCAI, según la carta Roche. En (b) la imagen (a) segmentada donde los píxeles blancos corresponden a áreas lipídicas en el filete (no tomados en cuenta por el algoritmo de medición de color).

RESULTADOS Y DISCUSION

Calibración del sistema SCAI.

En la Tabla 1 se muestra los resultados obtenidos producto de la calibración del sistema SCAI para su habilitación a medir valores del espacio de color Lab desde el espacio de color RGB.

Tabla 1.- Valores de parámetros (Ecuación 1) para los distintos valores de L, a y b.

Parámetros	L	a	b
M ₁	0.2186	0.335	0.093
M ₂	0.1316	-0.5012	0.435
M ₃	-0.0211	0.1551	-0.0538
M ₄	-0.0005	0.0001	-0.0001
M ₅	0.0012	0.0003	0.0005
M ₆	0.0002	0.001	-0.0007
M ₇	-0.0005	0.0011	0.0001
M ₈	0.0002	-0.001	0.0003
M ₉	-0.0007	-0.001	-0.0018
M ₁₀	15.527	-0.393	-4.4257

El error total obtenido como resultado del ajuste de mínimos cuadrados, usando la Ecuación 1, para cada valor L a b, fueron establecidos en 3 % para L, 1 % para valores de a y 1,3 % para valores de b. El error fue calculado de acuerdo a lo mencionado por León *et al.*, (2006).

En la Figura 5 se muestra los valores Lab de la carta de color Roché, usada como base para el algoritmo de asignación de números roche (20 a 34) a cada valor de píxel de la imagen capturada correspondiente a un filete. Un programa en Matlab 7 Versión sp3, (Mathwork®) fue programado para establecer un valor de Lab, desde valores originales de RGB medido por la computadora, y luego trasladar dichos valores Lab a valores de la carta Roché.

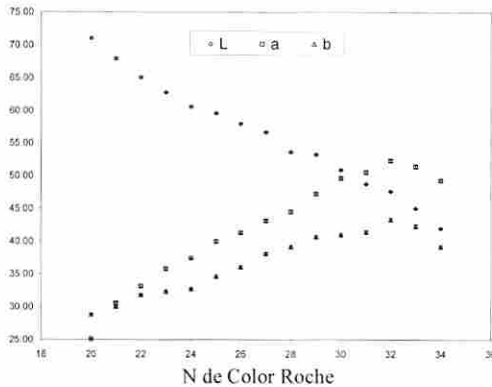


Figura 5.- Valores del espacio Lab correspondiente a la carta Roche, medidos con el HunterLab.

En la Tabla 2, se muestra los resultados preliminares para la clasificación de los filetes efectuada tanto por los jueces entrenados, como por el sistema (SCAI) de medida computacional (análisis de los filetes establecidos para 20 muestras). En promedio el sistema de medida SCAI pudo establecer una clasificación en un 90 % de los casos, comparados con la clasificación efectuada por el panel de jueces expertos.

Tabla 2.- Valor de carta Roche asignado a los filete de salmón por jueces experto y por sistema SCAI.

Día	Jueces	SCAI	% Concordancia (20 filetes)
1	25	26	90
2	29	28	85
3	33	33	93
4	20	21	91
5	22	23	88
6	24	23	95
7	30	29	89
8	31	31	90

CONCLUSIONES

En relación a los resultados obtenidos en esta investigación preliminar, se concluye preliminarmente lo siguiente:

- Se puede clasificar filetes de salmón, usando como técnica el análisis de imágenes, correlacionando los datos entre los espacios de color RGB, espacio de color Lab y valores de la carta Roche.
- El error promedio obtenido por el sistema de captura SCAI, se fueron establecidos en 3 % para L, 1 % para valores de a y 1,3 % para valores de b.
- Según el método de clasificación propuesto, se puede obtener hasta un 90% de concordancia con lo manifestado por el panel de jueces sensoriales, durante la asignación de valores de la carta roche a los filetes.

Finalmente, más estudios deberán realizarse para establecer el efecto de la variabilidad de filetes de acuerdo a su estacionalidad y destino de procedencia.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al proyecto FONDECYT – Chile N° 1060355, por el financiamiento a esta investigación.

BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS

- Briones, V. y Aguilera, J. M. 2005. Image analysis of changes in surface color of chocolate. *Food Research International*. 38: 87-94.
- Forsberg, O. y Guttormsen, A. 2006. A pigmentation model for farmed Atlantic salmon: Nonlinear regression analysis of published experimental data. *Aquaculture*. 253: 415-420.
- Helge-Stien, L., Kiessling, A. y Manne, F. 2007. Rapid estimation of fat content in salmon fillets by colour image analysis. *Journal of Food Composition and Analysis*. 20: 73-79.
- León, K., Mery, D., Pedreschi, F. y León, J. 2006. Color measurement in L*a*b* units from RGB digital images. *Food Research International*. 39: 1084-1091.
- Li, J., Tan, J., Martz, F. y Heymann, H. 1999. Image texture features as indicators of beef tenderness. *Meat Science*. 53: 17-22.
- Quevedo, R., Carlos, L., Aguilera, J. M. y Cadoche, L.. 2002. Description of food surfaces and microstructural changes using fractal image texture analysis. *Journal of Food Engineering*. 53: 361-371.
- Quevedo, R., Mendoza, F., Aguilera, J. M., Chanona, J. y Gutiérrez-lópez, G. 2007. Determination of senescent spotting in banana (*Musa cavendish*) using fractal texture fourier image. *Journal of Food Engineering*, In Press, Accepted Manuscript, Available online 5 July 2007.
- Zheng, C., Sun, D. y Zheng, L. 2007. A new region-primitive method for classification of colour meat image texture based on size, orientation, and contrast. *Meat Science*. 76: 620-627

**PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF LIPOSOMES
MICROENCAPSULATING ESSENTIAL OIL OF BRAZILIAN CHERRY
(*EUGENIA UNIFLORA* L.)**

Yoshida, P.A.¹; Rodrigues, R.A.²; Foglio, M.A.²; Pinho, S.C.¹

¹USP, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos –
Departamento de Engenharia de Alimentos

²UNICAMP, Centro de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA),
Divisão de Fitoquímica

¹Av Duque de Caxias Norte 225 – Jd Elite – Pirassununga – SP - Brazil

Phone (55 19) 35654288 – Fax (55 19) 3565 4284

e-mail: samantha@usp.br

Keywords: microencapsulation, liposome, essential oil, *Eugenia uniflora* L..

SUMMARY

Multilamellar liposomes (MLV) containing essential oil of Brazilian cherry leaves (*Eugenia uniflora* L.) were synthesized by the film hydration method using purified soy phospholipid. The data obtained by quasi-elastic light scattering (QLS) showed the liposomes (6 mg phospholipids/mL in the final liposomal dispersion) had diameters around 500 nm. GC-MS analyses also proved the compounds found in the essential oil were encapsulated in the liposomes, in a final concentration of 3 mg Brazilian cherry essential oil/mL (in the final liposomal dispersion). Calorimetric analyses (DSC) demonstrated the incorporation of the essential oil caused an increase in the structural stability of the liposomes, in comparison to the vesicles without it.

INTRODUCTION

Although liposomes have been largely used for many years in the pharmaceutical and cosmetic research and industry, only in the last decade the food scientists have started to effectively explore their potentialities for food applications (Berrocal *et al.*, 1999; Ueich *et al.*, 1999; Roberts and Gordon, 2003; Kheadr *et al.*, 2003; Morais *et al.*, 2003).

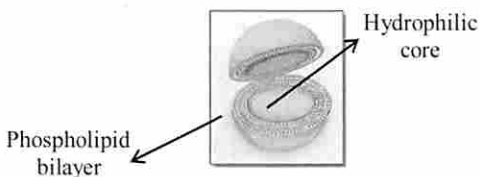


Figure 1: Schematic representation of a liposome (unilamellar vesicle).

The main reasons normally given for the lack of investigation and development of applications of these nanoparticles for food are: (i) difficulty of producing large volumes of liposomes; (ii) some preparation methods employ organic solvents do not accepted by the food industry; (iii) high cost of the raw material (purified phospholipids) for liposome production. As for the first reason, today it is already possible to produce liposomes using spray drying (Alves and Santana, 2004) equipments, very common in food industries; about the second reason, these methods can be perfectly adapted in order not to employ any other organic solvent but ethanol. The third reason – the decrease of costs – is already under investigation, but when food applications are the focus, it is possible to mix pure phospholipids with commercial soy lecithin to produce the liposomes. According to the literature, the microencapsulation of essential oils is feasible, being already tested for pharmaceutical purposes (Valenti *et al.*, 2001; Sinico *et al.*, 2005). The main aim of this work was to produce multilamellar

liposomes containing essential oil of Brazilian cherry and characterize them: (i) structurally by scanning differential calorimetry; (ii) in terms of average diameter by quasi-elastic light scattering and (iii) showing the compounds found in the essential oil were also present in the vesicles.

MATERIALS AND METHODS

Essential oil: The essential oil of Brazilian cherry leaves (*Eugenia uniflora* L.) was obtained by hydrodistillation. 2 kg of fresh leaves were mixed with 4L of distilled water, in a Clevenger distillation system; after 3 h of distillation, the distillate was washed 3 times with ethyl acetate. The organic phase was concentrated under vacuum up to complete elimination of the organic solvent, and the final yield in terms of essential oil was 0,9% (17,8 g).

Liposome preparation: The liposomes, composed of purified soy lecithin (Lipoid S100-3, Lipoid, Germany) were prepared by the hydration film method. Shortly, the phospholipid (6 mg/mL) and the essential oil (3 mg/mL) were completely solubilized in organic solvent (chloroform/methanol 9/1, v/v). Afterwards, these organic solvents were removed under vacuum (Marconi MA120), at 65°C (1 h). The dry lipid film was then hydrated with deionized water, at 65° C for 30 min. The separation of non-encapsulated compounds of the essential oil was carried out by centrifugation at 15000 rpm (3x 1 h, centrifuge Beckman J2-21).

Liposome rupture: To verify the compounds effectively encapsulated in the liposomes, it was necessary to liberate them by rupturing the vesicles. This procedure consisted of mixing the liposomes and anhydrous ethanol (1/9, v/v) for 1 h (LIMA, 2000).

GC-MS analyses: These analyses were carried out using a gas chromatograph HP5890 with a mass detector HP 5970. The column used was a HP Ultra-2; the mobile phase was He (1 mL/min), with a split ratio of 10:1. H₂ and N₂ and synthetic air were used for FID detection. For the identification of the compounds was employed the library NIST 2005.

DSC analyses: The scannings were made from 40 to 110° C (0,5 °C/min), using 0,5 mL of liposome dispersion (standard: deionized water), in a N-DSC III (Calorimetry Sciences Corp.).

QLS analyses: The distribution and average diameter of the liposomes were determined by quasi-elastic light scattering (Autosizer 4700, Malvern Instruments). The measurements were obtained using a laser angle of 90°.

RESULTS AND DISCUSSION

The DSC analyses – represented here by Figures 2 and 3 – showed the essential oil incorporation affected the liposomal structure, making it more stable in comparison to the liposomes without essential oil.

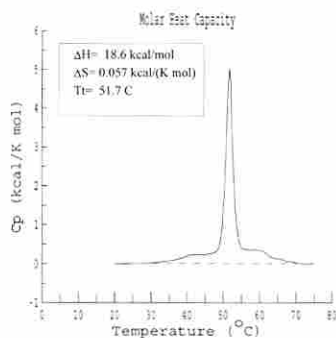


Figure 2: Thermogram obtained for liposomes without essential oil.

Observing the thermogram showed in Figure 1, it can be noticed that a high cooperative phase transition from gel to crystalline liquid state occurred at 51.7°C, close to the one predicted by the literature (Blume, 1991) for liposomes with the lipid bilayer composed of only DSPC (distearoylphosphatidylcholine). In the case of this work, the peak basis is wider, probably because a pre-transition (typical of MLV dispersions) happened at approximately 43°C. Another fact that certainly contributed to this enlargement of the peak basis is that the Lipoid S100-3 is a mixture constituted of 77% DSPC and 23% PSPC (palmitoyl-stearoylphosphatidylcholine).

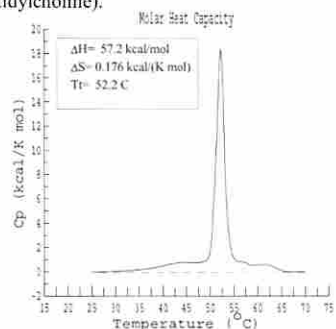


Figure 3: Thermogram obtained for liposomes containing essential oil.

Figure 3 shows that the transition phase temperature was not altered and remained very cooperative; however, the enthalpy involved in the process was much higher (from 15 to 50 kcal/mol). This fact indicates a more stable structure, probably due to the incorporation of free fatty acids contained in the essential oil. These compounds, when incorporated into the phospholipid bilayer of the liposomes, stabilize the hydrophobic medium and decrease the average diameter of the vesicles (Ortiz and Gomez-Fernandez, 1987; Lasic, 1993). QLS results showed average particle diameter in the range of 500-600 nm, with a very narrow size distribution. One example of a curve of size distribution can be seen in Figure 4:

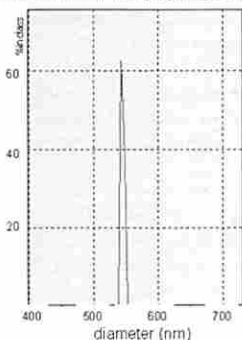


Figure 4: Example of a size distribution curve for liposomes containing essential oil.

GC-MS analyses were carried out with samples obtained from the supernatant of separation process (centrifugation) of the non-encapsulated compounds from the liposomes. The same was done with samples resulted from the rupture of the

liposomes with essential oil with ethanol. The results can be seen in Figures 5 and 6.

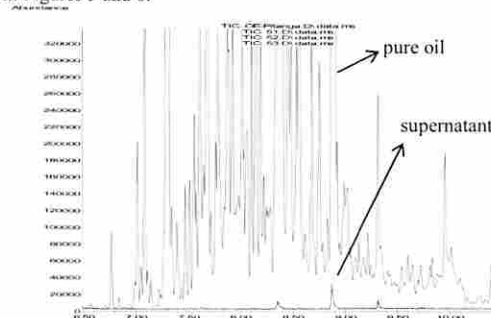


Figure 5: Chromatogram obtained for the supernatant resulting from the separation process of the liposome and non-encapsulated substances of the essential oil.

Figure 5 shows the supernatant resulting from the separation process does not contain any compound of the essential oil in a considerable amount.

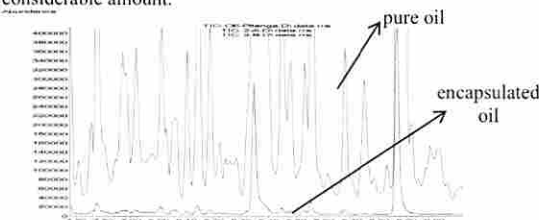


Figure 6: Chromatogram obtained for the encapsulated compounds (obtained after the rupture of the liposomes).

As for Figure 6, even considering the original liposome sample was diluted 10 times due to the addition of ethanol in the rupture process, it can be noticed coincident chromatograms for the pure oil and for the substances encapsulated in the liposomes. In addition, the compounds in higher quantity in the pure essential oil are certainly in a higher quantity in the liposomes also.

CONCLUSIONS

The results of this study allow us to conclude it is possible to encapsulate essential oil with a good efficiency (yet not calculated here, it can be clearly seen analyzing the chromatograms) in liposomes. Calorimetric analyses showed these colloidal structures were more stable than the ones without essential oil, in a ratio of 2:1 m/m of phospholipid/essential oil in the final dispersion. Of course, additional studies are necessary to determine the stability of these structures in the aqueous dispersion form (for liquid food formulations), and also lyophilized (for solid ones).

REFERENCES

- Alves, G.P.; Santana, M.H.A. Phospholipid dry powders produced by spray drying processing: structural, thermodynamic and physical properties. *Powd. Technol.*, 145, 139-145, 2004.
- Bercoval, M.C.; Bujan, J.; Jurado, F.; Abeger, A. Aging of soya-PC liposomes containing vitamin E reverses the stimulating effects of freshly prepared liposomes on growth of fibroblasts in culture. *Drug Deliv.*, 5, 243-250, 1999.
- Blume, A. Biological calorimetry: biomembranes. *Termochimica Acta*, 193, 299-347, 1991.
- Kheadr, E.E.; Vuillemand, J.C.; El-Deeb, S.A. Impact of liposome-encapsulated enzyme cocktails on cheddar cheese ripening. *Food Res. Int.*, 36, 241-252, 2003.
- Lasic, D.D. *Liposomes: from physics to applications*. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 1993.
- Lima, H.O.S. *Estudo da encapsulação de fármacos de primeiro tratamento da tuberculose em ciclodextrinas e lipossomas*. Ph.D. Thesis - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas (in Portuguese), 2001.
- Morais, H.A.; Barbosa, C.M.S.; Delvivo, F.M.; Mansur, H.S.; Oliveira, M.C.; Silvestre, M.P.C. Stability and sensory evaluation of casein hydrolysates entrapped in liposomes. *Braz. J. Food Technol.*, 6, 213-220, 2003.
- Roberts, W.G.; Gordon, M.H. Determination of the total antioxidant activity of fruits and vegetables by a liposome assay. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 1486-1493, 2003.
- Simico, C.; De Logu, A.; Lai, F.; Valenti, D.; Manconi, M.; Loy, G.; Bonsignore, L.; Fadda, A.M. Liposomal incorporation of *Artemisia arborescens* L. essential oil and in vitro antiviral activity. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 59, 161-168, 2005.
- Uclich, R.; Pizarro, F.; Almeida, C.; Díaz, M.; Boccio, J.; Zubillaga, M.; Carmuega, E.; O'Donnell, A. Bioavailability of microencapsulated ferrous sulfate in fluid cow milk: studies in human beings. *Nut. Res.*, 19, 893-897, 1999.
- Valenti, D.; De Logu, A.; Loy, G.; Simico, C.; Bonsignore, L.; Cottiglia, F.; Garau, D.; Fadda, A.M. Liposome-incorporation *Santolina insularis* essential oil: preparation, characterization and in vitro antiviral activity. *J. Lipos. Res.*, 11, 73-90, 2001.

ELABORACIÓN DE LICOR DE ARAZÁ (*Eugenia stipitata*) DE LA AMAZONÍA ECUATORIANA

Ortiz, Jacqueline; Mendoza, Guillermo
 UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
 CENTRO DE INVESTIGACIÓN
 FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
 Unidad Operativa de Investigación en Tecnología de Alimentos
 Av. Los Chasquis y Río Payamino
 Casilla 18-01-0334 E.mail. jortizes@uta.edu.ec
 AMBATO – ECUADOR

Palabras clave: tecnología, licor, arazá, *Eugenia stipitata*, maceración, maduración, bouquet.

RESUMEN

La industrialización de frutas exóticas como el arazá es limitada tanto a nivel nacional como internacional; por ello el desarrollo de tecnologías que otorguen valor agregado a esta fruta con potencial productivo, es importante.

En esta investigación se planteó como opción tecnológica el desarrollo de una bebida de grado alcohólico moderado, para lo cual se planteó un tratamiento de maceración de la fruta en alcohol desodorizado, se trabajó con dos ecotipos existentes en la región amazónica del Ecuador: arazá amarilla y verde; y dos concentraciones de fruta 50% y 75%. Mediante un tratamiento previo se determinó que a las 72 horas se logra extraer la mayor cantidad de compuestos aromáticos de la fruta. Luego, se filtró y permitió la maduración por 70 días para desarrollar bouquet en el licor, durante este tiempo se registró la variación de pH, acidez, grado Brix y grado alcohólico, en las muestras maduras se realizaron análisis de aldehídos, esteroides, alcoholes superiores, furfural y metanol, mediante técnicas cromatográficas.

Al finalizar el proceso de maduración se prepararon los licores estandarizando las mezclas a 18°Brix y 24°GL; estos se presentaron a un panel de catadores semientrenados para determinar la preferencia de los consumidores. Del análisis sensorial se concluye que el licor elaborado con arazá amarilla con una concentración de 50%, ofrece un producto de excelente calidad sensorial para el segmento de mercado seleccionado.

1. INTRODUCCIÓN

El arazá-boi o arazá, es una planta originaria de las selvas húmedas de la Amazonía occidental, encontrándose principalmente en plantaciones naturales en la Amazonía peruana en la cuenca inferior del río Ucayali. (González J. R. 1991)

Es una planta baja, compacta y muy precoz a la hora de producir, puede dar frutos desde que tiene un metro de altura, sin embargo en su estado adulto alcanza hasta los 7 metros. (Bolaños V, Lara E. 2005).

Es un fruto de baya esferoidal de color verde en su estado inmaduro pasando a color amarillo en su estado maduro para una variedad y manteniendo la coloración verde de la cáscara en la otra variedad, posee un promedio de 10 semillas. El fruto de arazá presenta aroma agradable y deliciosamente ácido. Se la emplea en la preparación de refrescos domésticos y algo en mermeladas, helados y jaleas. No se consume como fruta fresca, aunque es posible hacerlo. Teniendo en cuenta que el porte arbustivo de la planta permite establecer plantaciones relativamente densas y presentando los frutos alto porcentaje de pulpa se puede expresar que este frutal tiene características favorables para su industrialización. Se agrega a ello que el

fruto presenta características organolépticas, aroma persistente y sabor agradable que lo hacen muy apreciado. (Bolaños V, Lara E, 2005)

Los licores son bebidas hidroalcohólicas aromatizadas obtenidas por maceración, infusión o destilación de diversas sustancias vegetales naturales, con alcoholes aromatizados, o por adición a los mismos de extractos aromáticos, esencias o aromas autorizados, o por la combinación de ambos, coloreados o no. A partir de esta definición podemos decir que los licores se clasifican principalmente en licores naturales; aquellos que se obtienen como un aguardiente de plantas, frutas, etc. y se endulzan, y los licores artificiales que se obtienen mediante la maceración en alcohol de frutas, plantas, especies, hierbas, etc., y también son endulzados.

2. MATERIALES Y METODOS

2.1. Materiales

Se utilizó arazá (*Eugenia stipitata*) con adecuada madurez organoléptica proveniente del sector de Madre Tierra provincia de Pastaza - Ecuador, cosechadas entre marzo y abril del 2006, se usaron dos ecotipos: amarilla y verde; para la preparación del macerado se utilizó alcohol desodorizado de 96.4°GL adquirido en una empresa productora de licores de la ciudad de Ambato, Ecuador y azúcar blanca.

2.2. Método

Se prepararon macerados de arazá utilizando dos ecotipos en dos concentraciones 50 y 75%, para lo cual se trituró manualmente la fruta y se dejó en contacto con alcohol desodorizado durante 72 horas (tiempo determinado experimentalmente), con la finalidad de extraer la mayor cantidad de aceites esenciales y otros componentes aromáticos, que enriquecerán el bouquet del licor final.

Se filtraron los macerados para retirar los residuos de fruta y se dejaron en maduración por 70 días, durante esta etapa se realizaron análisis de acidez, pH, grado alcohólico y grado Brix cada siete días.

Las muestras maduras fueron analizadas por cromatografía de gases en los Laboratorios del Instituto Ecuatoriano de Normalización – INEN-, determinándose aldehídos, esteroides, furfural, alcoholes superiores y metanol.

Se prepararon los licores mediante la dilución con un jarabe preparado con azúcar blanca y agua desionizada - desmineraliza, hasta alcanzar una bebida de 24°GL y 18°Brix, parámetros obtenidos luego de un análisis sensorial realizado con varias muestras de diferentes niveles de dulzor y grado alcohólico.

La prueba sensorial se realizó con las cuatro formulaciones desarrolladas con la participación de 20 personas

preseleccionadas, quienes aplicaron una ficha de catación diseñada para el efecto.

2.3. Identificación de los Tratamientos y Diseño Experimental

Los tratamientos analizados son:

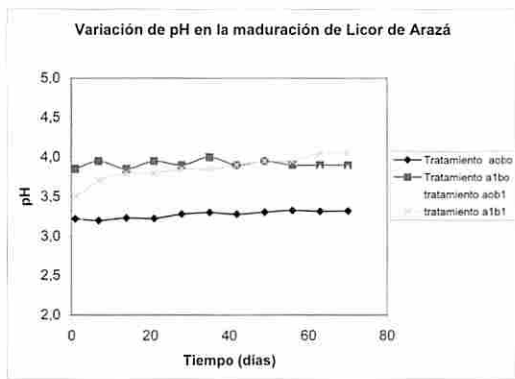
- a₀b₀ Arazá ecotipo amarilla al 50 %
- a₁b₀ Arazá ecotipo verde al 50 %
- a₀b₁ Arazá ecotipo amarilla al 75 %
- a₁b₁ Arazá ecotipo verde al 75 %

El diseño experimental utilizado fue un A x B, con réplica.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

El pH de los concentrados alcohólicos durante la maduración disminuye ligeramente en las muestras estudiadas, los valores finales obtenidos a los 70 días son 3,32, 3.90, 3.85 y 4.05 respectivamente. Del análisis estadístico a p = 0.05, se concluye que el arazá amarilla tiene un pH más ácido, así como las muestras elaboradas con 50% de fruta.

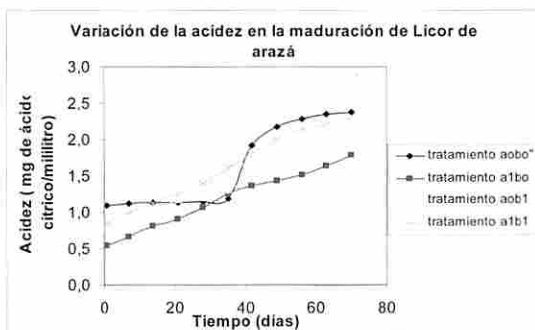
Gráfico 1. Variación de pH con relación al tiempo en licor de arazá.



El licor de arazá concentrado es ácido debido a la naturaleza de la materia prima utilizada que es muy rica en ácidos orgánicos, el valor reportado de 1.67 mg/100 ml, por Ricardo Barrante, en su investigación denominada Estudio químico bromatológico de diferentes individuos de *Eugenia stipitata Mc Vaugh* (Arazá), confirma los valores obtenidos para acidez total; que están en el orden de 2.39, 1.79, 2.19 y 2.29 mg de ácido cítrico/100 ml, respectivamente.

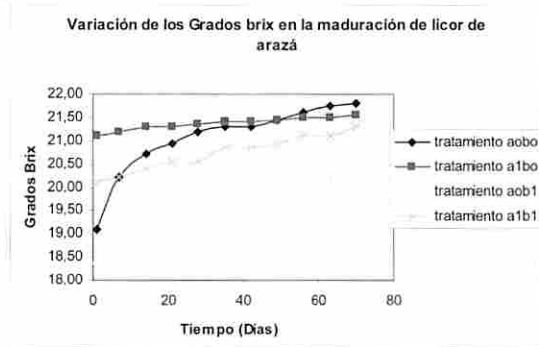
Del análisis estadístico a p = 0.05, se concluye que el arazá amarilla ofrece un concentrado de mayor acidez; con relación a la concentración de fruta, estadísticamente se demuestra que no hay diferencia significativa.

Gráfico 2. Variación de acidez con relación al tiempo en licor de arazá



Durante la maduración la cantidad de sólidos solubles se incrementaron levemente, el valor promedio obtenido en los concentrados es de 21.5°Brix, lo cual se debe a una ligera evaporación del líquido, al no disponer de un recipiente totalmente hermético. En el análisis estadístico realizado a p = 0.05, se determinó que no existe diferencia significativa en los factores analizados.

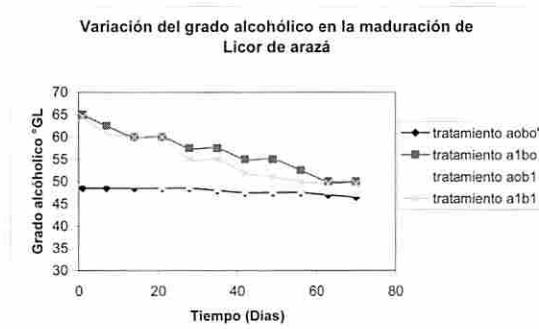
Gráfico 3. Variación del grado °Brix con relación al tiempo en licor de arazá



Con respecto al grado alcohólico de los concentrados alcohólicos se observa que al finalizar el proceso de maduración las muestras estudiadas están alrededor de 48°GL.

La determinación de la significación estadística por análisis ANOVA, determina que el licor elaborado con arazá amarilla permite la obtención de una bebida con mayor grado alcohólico, es decir que los grupos de licores obtenidos son estadísticamente diferentes; con relación a la cantidad de fruta en el estadístico se determina que son de características similares.

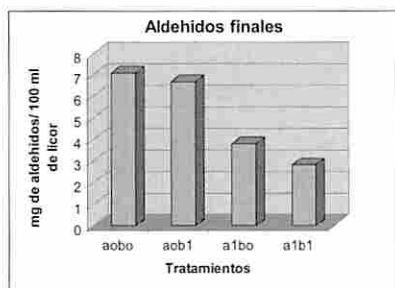
Gráfico 4. Variación del grado alcohólico con relación al tiempo en licor de arazá



Análisis Cromatográfico:

Los aldehídos presentes en la fruta son responsables del olor y sabor característicos; en el análisis cromatográfico se determinó que el ecotipo amarillo concede una mayor cantidad de aldehídos al producto final, así como la mayor concentración de fruta.

Gráfico 5. Concentración de Aldehídos en licores de arazá.



Fuente: Análisis INEN

Los ésteres aportan a los licores un agradable olor afrutado, de acuerdo a los resultados obtenidos se observa que el arazá amarilla al 50% aporta importantes cantidades de esteres expresados como acetato de etilo, los valores obtenidos para este ecotipo están en el orden de 22.5 y 0.8 mg/100 cm³ respectivamente, los valores están dentro de lo exigido en la Norma NTE INEN 342 (máximo 30 mg/100 cm³). En el caso de arazá verde los valores reportados en las dos concentraciones son de 5.7 y 1.9 mg/100 cm³, respectivamente.

Gráfico 6. Concentración de esteres en licores de arazá.



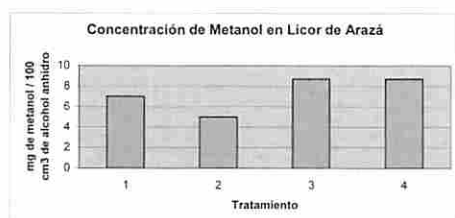
Fuente: Análisis INEN

El furfural otorga un olor a almendra amarga en licores almacenados, en los productos estudiados la concentración de furfural reportada es de 0 mg/100 cm³, lo cual es positivo para los productos elaborados ya que este compuesto otorga cierta toxicidad al licor, la norma NTE INEN 2014 reporta como máximo la cantidad de 1.5 mg/100 cm³ de furfural.

Los alcoholes superiores son productos beneficiosos organolépticamente en bajas concentraciones, según la Norma NTE INEN 2014 el máximo permitido es de 150 mg/ 100 cm³; en los productos finales obtenidos las concentraciones son muy bajas, no alcanzan el 1 mg/ 100 cm³, lo cual garantiza la ausencia de sabores desagradables o de toxicidad.

Los licores de arazá tienen concentraciones de metanol que están en el orden de 7.0, 5.0, 8.7, y 8.7 mg/ 100 cm³ respectivamente, cuando su grado alcohólico es en promedio 60°GL, la norma NTE-INEN-2014 recomienda como límite máximo 10 mg/100 cm³ para licores de 45°GL, los valores obtenidos están debajo de este nivel.

Gráfico 7. Concentración de metanol en licores de arazá.



Fuente: Análisis INEN

Análisis Sensorial

Se seleccionó un grupo de jóvenes hombres y mujeres, en edades comprendidas entre los 20 a 25 años, para valorar sensorialmente los licores elaborados, con relación al sabor y aroma, mostraron preferencia por el licor de arazá amarilla al 50%; con relación al color el producto elaborado con arazá verde obtuvo una ligera preferencia.

Finalmente cuando se consultó sobre la aceptabilidad de los licores los jueces se inclinaron por seleccionar al licor de arazá amarilla al 50%.

4. CONCLUSIONES

La tecnología desarrollada para la elaboración de licores a partir de arazá permitió obtener de una manera sencilla un producto de buena calidad sensorial y atractivo para el segmento de mercado jóvenes; se recomienda utilizar el ecotipo amarillo al 50%, para obtener un producto de fino y delicado bouquet.

5. AGRADECIMIENTO

A la Universidad Técnica de Ambato (UTA), Centro de Investigación (CENI) y Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos (FCIAL) por financiar este trabajo con fondos institucionales.

6. BIBLIOGRAFIA Y REFERENCIAS

- B González, J.R. 1991. El cultivo del arazá en la Amazonia peruana. Programa de investigación en Cultivos Tropicales. INIA. Lima. 30 p.
- Ricardo B., Delma Y. 2002. Estudio Químico Bromatológico de diferentes individuos de *Eugenia stipitata* Mc Vaugh (Arazá) Bolaños, V. Lara, E. 2005 Determinación de las propiedades Físicas y Químicas del Arazá.
- Hernández, MS y J.A. Gavis. 1993. Procesamiento de Arazá y Copoazú, Colombia Amazónica.
- INIAP, 2004 Departamento de Nutrición y Calidad. Quito Ecuador.
- León, J. 1987. Botánica de los cultivos tropicales. Servicio Editorial IICA.
- Colección libros y materiales educativos N° 84. Costa Rica. p. 358-359.
- Suquilanda M. 1995. Arazá (*Eugenia Stipitata*) Informe Técnico No 12 Programa de Investigación de Cultivos Tropicales Lima - Perú.
- Instituto Ecuatoriano de Normalización: Normas NTE-INEN-342, 2014.
- Pezo, A. y Pezo, F. 1984. Ensayos y preparación de néctar y jalea de arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh). Tesis Ing. Químico, Univ. Nac. de la Amazonia Peruana. Iquitos, Perú.
- <http://www.apoloybaco.com/Licores>