

ALIMENTOS CIENCIA E INGENIERÍA Vol.21 (1) - 2013

Octubre 2013



Revista de la Facultad de Ciencia
e Ingeniería en Alimentos de la
Universidad Técnica de Ambato

Recopilación de Trabajos Presentados en el Coloquio Sobre Ingeniería de Alimentos

La Revista ALIMENTOS CIENCIA E INGENIERÍA es una publicación semestral de artículos técnicos de Tesis de Grado, Trabajos Estructurados de Manera Independiente, Trabajos de Investigación realizados en la FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS de la UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO, así como contribuciones de otras Universidades e Instituciones con las cuales la Facultad mantiene convenios de cooperación mediante el intercambio científico y cultural.

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



Rector
Vicerrector Académico
Vicerrector Administrativo
Decana
Subdecano
Comité Editorial

Ing. M. Sc. Luis Amoroso Mora
Dr. M. Sc. Galo Naranjo López
Ing. M.Sc. Jorge León Mantilla
Ing. Mg. Gladys Navas Miño
Ing. Alm. Milton Ramos Moya. M. Sc. Ph. D.
Ing. Alm. Juan de Dios Alvarado. M. Sc.
Ing. José Ramiro Velastegui. Ph.D.
Ing. Alm. Jacqueline Ortiz Escobar. Mg. Ph.D.
Ing. Cecilia Mercedes Carpio. M. Sc.
Ing. Alm. Milton Ramos Moya. M. Sc. Ph. D.
Dr. Borja Velásquez Marti. Ph. D.
Dra. Pamela Jaramillo Bustos. M. Sc. Ph. D.

CONTENIDO

TEMA	Página
Editorial	1
Presentación	3
ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES REOLOGICAS Y FUNCIONALES DEL MAIZ NATIVO RACIMO DE UVA (<i>Zea mays. L.</i>)	5
Victoria Mayorga, Elena Villacrés, Mayra Paredes.	
DETERMINACIÓN DE LOS PRINCIPALES INDICADORES EN EL TIEMPO DE VIDA DE ANAQUEL DE PANELA GRANULADA DE LAS UNIDADES PRODUCTIVAS INGAPI Y EL PARAISO CON FINES DE EXPORTACION AL MERCADO NORTEAMERICANO.	10
Liliana Patricia Acurio Arcos, Nelly Lara y Juan de Dios Alvarado.	
OBTENCIÓN DE LACTO - JUGO A PARTIR DEL CAMOTE (<i>Ipomea batatas l.</i>) MEDIANTE PROCEDIMIENTOS BIOTECNOLÓGICOS	17
Janina Lissette Proaño Miniguano, Gladys Cecilia Navas Miño.	
EVALUACIÓN DEL EFECTO DE CUATRO MÉTODOS DE INOCULACIÓN DE DOS CEPAS DE <i>Azospirillum</i> spp., EN EL CULTIVO DE MAÍZ (<i>Zea mays L.</i>), VARIEDADES INIAP 122 Y 102, EN LAS PROVINCIAS DE IMBABURA Y PICHINCHA.	23
Gabriela Ortiz y Ramiro Velastegui.	
ESTUDIO DEL EFECTO DE GLUCOXIDASAS Y ALFA-AMILASAS EN LA ELABORACIÓN DE PAN CON SUSTITUCIÓN PARCIAL DE HARINA DE PAPA (<i>Solanum tuberosum</i>) NACIONAL.	33
Marcela Pulloquinga; Alexandra Lascano, María Rodríguez, Mario Alvarez y Galo Sandoval (†).	
ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LOS TIEMPOS DE PRECOCIÓN AL VAPOR DE FIDEOS ELABORADOS CON DIFERENTES MEZCLAS FARINACEAS.	40
Ricardo Martínez Cáceres, Gladys Navas Miño, Galo Sandoval Chasi (†)	
EVALUACIÓN DEL EFECTO DE ENZIMAS (<i>gluco-oxidasas, hemi-celulasas</i>) Y EMULSIFICANTE (<i>estearil lactilato de sodio</i>) EN LA CALIDAD DE PAN ELABORADO CON SUSTITUCION PARCIAL DE HARINA DE TRIGO NACIONAL (<i>Triticum vulgare</i>) VARIEDAD COJITAMBO.	49
Angélica Toaquiza; Alexandra Lascano, Jacqueline Ortiz, Mario Álvarez y Galo Sandoval (†).	
ESTUDIO DEL EFECTO DE MEJORADORES DE HARINA EN EL DESARROLLO DE MASAS PARA LA ELABORACION DE PASTAS CON SUSTITUCIÓN PARCIAL DE HARINAS DE QUINUA (<i>Chenopodium quinoa</i>) Y PAPA (<i>Solanum tuberosum</i>).	56
Mercedes Pazuña; Susana Brito, Mario Álvarez, Galo Sandoval (†) y Lenín Garcés.	

EFFECTO DE LA SUSTITUCIÓN PARCIAL DE HARINA DE TRIGO, POR DOS TIPOS DE HARINA DE ZANAHORIA BLANCA (<i>Arracacia xanthorrhiza</i>), EN LA CALIDAD DE LA PASTA.	62
---	----

Verónica Martínez, Mónica Silva y H. Aníbal Saltos.

UTILIZACIÓN DE ENZIMAS PECTOLÍTICAS (<i>Lallzyme EX</i> y <i>Lallzyme C-MAX</i>), EN LA ELABORACIÓN DE VINO DE MORA (<i>Rubus glaucus Benth</i>) Y SU INCIDENCIA EN LA CALIDAD SENSORIAL.	68
---	----

Patricia Guano y Jacqueline Ortiz.

“ESTUDIO DE LA EVALUACIÓN FÍSICO-QUÍMICA Y FARINOGRÁFICA DE LA HARINA DE TRIGO (<i>Triticum aestivum</i>) OBTENIDA EN LOS PASAJES DE MOLIENDA DE LA INDUSTRIA “MOLINOS MIRAFLORES”	79
--	----

María José Cazares, Héctor Recalde, Mayra Paredes.

APLICACIÓN DE UNA TECNOLOGÍA DE ACONDICIONAMIENTO PARA LA ELABORACIÓN DE PAPA PREFRITA CONGELADA TIPO BASTÓN.	85
---	----

Lucía Pazmiño, Mónica Silva Ordóñez, Mario Álvarez Núñez, Milton Ramos Moya.

INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA EN EL DESARROLLO DE INDICES DE CONTROL BASADOS EN PROPIEDADES FÍSICAS PARA RECONOCER LA ADICIÓN DE SUERO RECONSTITUIDO EN LECHE DE VACA.	89
---	----

Juan de Dios Alvarado y Erika Espinel.

BIODEGRADABLE FILMS CONTAINING CLOVE OR CITRONE-LLA ESSENTIAL OILS AGAINST THE MEDITERRANEAN FRUIT FLY <i>Ceratitis capitata</i> (Diptera: Tephritidae)	99
---	----

(Transcrito de Journal of Agriculture and Food Technology, 3(3) 1-7, 2013)

Mirari Arancibia, Alejandro Rabossi, Pablo Alejandro Bochicchio, Silvia Moreno, María Elvira.

COLOR, PHENOLICS, AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF BLACK-BERRY (<i>Rubus glaucus Benth.</i>), BLUEBERRY (<i>Vaccinium floribundum Kunth.</i>), AND APPLE WINES FROM ECUADOR.	106
---	-----

(Transcrito de Journal of Food Science, 78(7) C985-C993, 2013)

Jacqueline Ortiz, María Remedios Marín Arroyo, María José Noriega Domínguez, Montserrat Navarro, and Iñigo Arozarena.

EDITORIAL



La extrema diligencia que pusieron en su trabajo los grandes investigadores hasta el fin de sus días respondió, en buena medida, a su decidido afán de hacer el bien a la humanidad.

La revista de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato ha ido recogiendo a lo largo del tiempo el espíritu investigador de sus docentes y alumnos en bien de nuestra Alma Máter. Algunos de los temas que aparecen en este número dicen a las claras la preocupación permanente de nuestros investigadores por el bienestar del ser humano: mejorar la productividad del maíz; incorporar harina de papa a la panificación con harina de trigo; incorporar harinas de productos nativos como: harinas de cebada, de maíz, de quinua, de trigo nacional, a la de trigo importado en la elaboración de fideos; sustitución parcial de harina de trigo por harina de zanahoria blanca en la elaboración de pastas; y otros originales y novedosos temas.

Nuestros investigadores se pasan la vida en el laboratorio. El sustantivo laboratorio procede del término latino labor (trabajo, tarea, fatiga). De ahí el adjetivo laborioso (difícil, esforzado, complejo). Para asumir una tarea laboriosa se necesita un ser humano con valentía, coraje, tenacidad. El ser humano tenaz retiene la dirección tomada y no la deja hasta terminarla.

De estas reflexiones en torno a la investigación, surgen virtudes que deben adornar a todo Miembro de la Comunidad Educativa de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, que debe ser: laborioso, tenaz, constante, perseverante y paciente.

El investigador de Alimentos, con las virtudes citadas, convierte su estudio y trabajo en juego creador y lo colma de sentido plenamente humano, porque quiere descubrir algo en favor del ser humano.

Jorge León Mantilla
VICERRECTOR ADMINISTRATIVO
UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

Presentación



En respuesta al cambio educativo, con inmensa satisfacción se logra nuevamente cumplir con uno de nuestros ambicionados objetivos, publicar un nuevo número de la revista Alimentos Ciencia e Ingeniería. Estamos seguros de proporcionar para las personas interesadas una fuente de difusión y de consulta, con base en aplicaciones de la tecnología, la ciencia y la ingeniería. La publicación intenta, divulgar las investigaciones desarrolladas por estudiosos de la FCIAL que han profundizado en diferentes temas de trabajos de investigación de graduación de tercer y cuarto nivel.

Especial mención se hará de dos artículos publicados en “Journals” internacionales indexados; trabajos realizados durante los estudios doctorales de dos estimadas colegas: Mirari Arancibia y Jacqueline Ortiz, que orgullosamente forman parte de la planta docente de la FCIAL. No hemos olvidado el recorrido por los corredores, aulas, laboratorios y de más rincones de la casona vieja de Ingahurco y por la nueva edificación de Huachi, de Galo Sandoval, amigo e investigador que ya no está con nosotros, pero que ha dejado un grato recuerdo en artículos impresos en estas páginas.

A continuación se menciona una breve síntesis de los contenidos

Se estudian las propiedades reológicas y funcionales del maíz nativo racimo de uva (*Zea mays*. l) y sus ecotipos: negro, morado y sangre de cristo.

Se determina los principales indicadores en el tiempo de vida de anaquel de panela granulada de las unidades productivas Ingapi y El Paraíso con fines de exportación al mercado norteamericano y se realizan cálculos de vida útil a temperatura constante, se utilizaron ecuaciones lineales que relacionan el incremento de la humedad y de actividad de agua frente al tiempo de almacenamiento.

Se estudia el efecto del uso de probióticos (*Lactobacillus plantarum* & *Lactobacillus casei*) y enzimas amilasas (Fungamyl) & Pectinasas (AFPL), en la fermentación ácido-láctica de camote (*Ipomoea batatas* l.) en la obtención de bebidas funcionales.

Con el propósito de mejorar la productividad se realizó la evaluación del efecto de cuatro métodos de inoculación de dos cepas de *azospirillum* spp., en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.), variedades INIAP 122 y 102, en las provincias de Imbabura y Pichincha.

El objetivo de estudiar el efecto de glucoxidasas y alfa-amilasas en la elaboración de pan con sustitución parcial de harina de papa (*Solanum tuberosum*) nacional fue para mejorar la calidad del pan y comprobarlo por medio de análisis farinográficos, alveográficos y en el mixolab. Se evalúan los cambios fisico-químicos que ocurren por la influencia de los tiempos de precocción al vapor en fideos elaborados con diferentes mezclas farináceas obtenidas a partir de productos nativos como: cebada, maíz, quinua, trigo nacional y papa.

Se realiza un estudio del efecto de diferentes concentraciones de enzimas (gluco-oxidasa y hemicelulasa) y aditivos (estearil lactilato de sodio) en una mezcla de 40% harina de trigo importado y 60% de harina de trigo nacional destinadas para la elaboración de pan.

Se estudia el efecto de la sustitución parcial de harina de trigo, por dos tipos de harina de zanahoria blanca (*Arracacia xanthorrhiza*), en la calidad organoléptica, nutricional, comercial y sanitaria de la pasta.

Se utilizan enzimas pectolíticas (Lallzyme ex y Lallzyme c-max), en la elaboración de vino de mora (*Rubus glaucus* Benth) y se estudia su incidencia en la clarificación y en la calidad sensorial.

Se evalúa físico-química y farinográficamente a la harina de trigo (*Triticum aestivum*) obtenida en los pasajes de molienda de la industria “Molinos Miraflores”.

Se desarrolla una tecnología de acondicionamiento que permite reducir la actividad de la enzima Polifenoloxidasa (PPO), para mejorar el color y mantener una textura aceptable en la elaboración de papa pre frita congelada tipo bastón.

Se presentan resultados parciales de un proyecto de investigación CENI-UTA, que trata sobre la influencia de la temperatura entre 5° y 40°C, sobre el desarrollo de índices de control basados en propiedades físicas, para reconocer la adición de suero reconstituido en leche de vaca (cruda, pasteurizada y UHT) en tres propiedades físicas (gravedad específica, viscosidad e índice de refracción) y sus interrelaciones.

Sabemos que hay trabajo realizado y más aún trabajo en marcha, se espera que esta publicación sea una invitación válida para hacer posible futuros trabajos de investigación con inventiva creadora, con un alto componente de ingeniería, que estén orientados a solucionar problemas de la industria y sobre todo que contribuyan a lograr una mejor alimentación de la población, que merece que se haga realidad el acceso al “buen vivir”.

Ing. Alim. Gladys Navas Miño.

Decana de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS Y FUNCIONALES DEL MAÍZ NATIVO RACIMO DE UVA (*Zea mays. L*)

STUDY OF RHEOLOGICAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF NATIVE CORN “GRAPES BUNCH” (*Zea mays. L*)

Mayorga Victoria¹, Villacrés Elena², Paredes Mayra¹

¹ Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.
mayorgavictoria8@yahoo.es

² Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, INIAP. 1/Departamento de Nutrición y Calidad de Alimentos.

RESUMEN

La presente investigación se realizó para caracterizar el maíz nativo “racimo de uva”, con sus ecotipos: negro, morado y sangre de Cristo. Se evaluaron algunas características físicas, propiedades reológicas del almidón, compuestos funcionales, fenólicos y la actividad alfa amilasa en el grano molido, además de las propiedades químicas del aceite obtenido del germen del maíz.

Los resultados muestran que los ecotipos morado y amarillo duro presentan mayores contenidos de amilosa (23.49% y 22.24%), lo que influye en el comportamiento viscográfico y en la digestibilidad del almidón de estos materiales. Los gránulos del almidón del ecotipo negro son de menor tamaño (20.57 eje mayor y 17.54 eje menor) en comparación con los gránulos del ecotipo rojo que registra 24.46 μm para el eje mayor y 18.52 μm para el eje menor. La temperatura inicial de gelatinización de los ecotipos amarillo suave y duro es menor en relación con los materiales morado, negro y rojo.

El almidón del ecotipo negro requiere 26 min. para alcanzar la textura adecuada para el consumo (cocido), comportamiento semejante al almidón de trigo, mientras que los almidones del maíz amarillo suave, morado y rojo requieren 29, 31 y 33 min., respectivamente. Las harinas de maíz carecen de propiedades extensibles y elástica. La actividad alfa-amilasa encontrada en los ecotipos de maíz amarillo (441-451), rojo (392-400), negro (321-331) y morado (321-331), resulta ser interesante para procesos fermentativos.

Respecto a la calidad del aceite, los ácidos grasos insaturados que se presentan en mayor proporción en el ecotipo de maíz rojo son, ácido oleico (33.42%), ácido linoleico (50.65%) y ácido linolénico (1.25%). Los ecotipos negro y morado presentan un perfil semejante. Además, el maíz morado predomina el α -tocoferol (109,5 ppm) y el α -tocotrienol (114,7 ppm), mientras que el ecotipo negro es rico en β -tocoferol y δ -tocotrienol (10,4 ppm); en el maíz amarillo suave sobresale el γ -tocoferol (720,4 ppm) y el δ -tocoferol.

Con respecto a los compuestos fenólicos, el maíz negro presenta mayor concentración de antocianinas (1,81 ppm), polifenoles (57.82 mg/g) y taninos (82.7 mg/g); con respecto al maíz amarillo, con 0.04 ppm de antocianinas, 1.84 mg/100 g de polifenoles y 1.58 mg/g de taninos. La coronta (Tuza) del maíz negro presenta una menor cantidad de compuestos fenólicos en relación al grano molido.

Palabras claves: Maíz negro (*Zea mays L*), ecotipos, actividad alfa –amilasa, propiedades extensibles y elásticas, compuestos fenólicos.

SUMMARY

This research was carried out to characterize the native corn “grape bunch” with its ecotypes: black, purple and blood of Christ. It was evaluated some physical, rheological properties of starch, functional compounds, phenols and alpha amylase activity in grain milling, in addition to the chemical properties of oil.

The results showed that the purple and yellow hard ecotypes have higher amylose content (23.49% and 22.24%), which influences the viscographic behavior and starch digestibility of these materials. The starch granules of black ecotype are smaller (20.57-axis and minor axis 17.54) compared with red granules ecotype (24.46 μm for the major axis and 18.52 μm for the minor axis). The pasting temperature of the yellow ecotype is less soft and hard materials in connection with purple, black and red. The starch in the black ecotype requires 26 min to achieve the right texture for eating (cooked), behavior similar to wheat starch, while the soft yellow corn starches, purple and red require 29, 31 and 33 min., respectively.

The corn meal without extensible and elastic properties, so unable to assess their behavior and extensographic farinaceous. Not so, wheat flour, which vary between the business types (refined) and comprehensive, registering an index of elasticity of 64 UB for refined flour and 62 UB for wheat flour, which also showed a lower rate of extensibility. Alpha-amylase activity found in ecotypes of yellow maize (441-451), red (392-400), black (321-331)

and purple (321-331), allows its use for direct fermentative processes, but not for mass inclusion in breadmaking.

With regard to oil quality, it was found that unsaturated fatty acids occur in greater proportion in the ecotype of red corn, with 33.42% of oleic acid, linoleic acid 50.65% and 1.25% linolenic acid. The black and purple ecotypes presented a similar profile (32.52% oleic acid, 50.25% - 49.78% linoleic acid, 1.29% - 1.19% linolenic acid). In the predominantly purple corn α -tocopherol (109.5 ppm) and α -tocotrienol (114.7 ppm), while the black ecotype is rich in β -tocopherol and δ -tocotrienol (10.4 ppm), in the soft yellow corn Excel γ -tocopherol (720.4 ppm) and δ -tocopherol.

With respect to the phenolics, black corn has higher anthocyanin concentration (1.81 ppm), polyphenols (57.82 mg / g) and tannin (82.7 mg / g) with regard to the yellow corn, with 0.04 ppm of anthocyanins, 1.84 mg/100 g of polyphenols and 1.58 mg / g of tannins. The cobs (Gopher) black corn had a lower amount of phenolic compounds in relation to the grind.

Keywords: black maize (*Zea mays* L), ecotypes, tensile and elastic properties, phenolic compounds.

INTRODUCCIÓN

El maíz constituye un alimento básico a nivel mundial, tanto para consumo humano como animal, ocupando el tercer lugar luego del trigo y el arroz. El maíz constituye uno de los productos agrícolas más importantes de la economía nacional, tanto por su elevada incidencia social, ya que casi las tres cuartas partes de la producción total proviene de unidades familiares campesinas, la mayoría de ellas de economías de subsistencia, como también por constituir la principal materia prima para la elaboración de alimentos concentrados (balanceados) destinados a la industria animal, muy en particular, a la avicultura comercial, que es una de las actividades más dinámicas del sector agropecuario. (Yúfera, 1987).

El maíz nativo “racimo de uva” *Zea mays*. L. es de especial interés debido a la existencia de un pigmento natural denominado cianidina-3-b-glucosa, el cual pertenece a las denominadas antocianinas, pigmentos que dan color a las frutas y vegetales, de las cuales se conoce ayudan a combatir el estrés oxidativo, las enfermedades degenerativas y a la vez brindan efectos benéficos para la salud y el bienestar. (Callejo, 2002).

Otro componente de interés en el maíz es el aceite, el cual es rico en ácidos grasos poli insaturados (58,7 % de ácido linoleico), o mono insaturados (24,2 % de ácido oleico) frente a los saturados (12,7 % de ácido palmítico y esteárico). Dentro de los ácidos grasos poli insaturados el aceite de maíz es rico en omega-6, (ácido linoleico). (Botanical, 2007).

Debido a estas propiedades el maíz morado podría inscribirse en la categoría de alimento funcional. Logrando de esta manera despertar el interés de los investigadores en los ámbitos de la alimentación y la nutrición ya que hoy en día se buscan intensamente alimentos funcionales en casi todos los rincones del mundo y de una diversidad de plantas. (Botanical, 2007).

El objetivo de esta investigación fue determinar las propiedades reológicas y funcionales del maíz nativo “racimo de uva” (*Zea mays*,L), para orientar sus usos y aplicaciones en la alimentación, la agroindustria y el comercio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

La materia prima utilizada fueron tres ecotipos del maíz

nativo (morado, negro y sangre de Cristo). Adquiridos en Salcedo Provincia de Cotopaxi.

Métodos

Características físicas

Contenido de amilosa: método colorimétrico Morrison y Laignelet, 1993.

Tamaño y apariencia del granulo del almidón: método adaptado por el Dep. Nutrición y calidad, (INIAP,2009)

Temperatura de gelatinización: método adaptado por el Dep. Nutrición y calidad (INIAP,2009).

Propiedades reológicas

Comportamiento amilográfico: método de Ruales y Nair, 1994

Comportamiento farinográfico: método AACC 54-21, 1992

Comportamiento extensográfico: método AACC 54-10, 1992

Propiedades funcionales

Poder de hinchamiento: método adaptado por el Dep. Nutrición y calidad ,(INIAP, 2009)

Índice de solubilidad: método adaptado por el Dep. Nutrición y calidad, (NIAP, 2009)

Actividad alfa amilasa: método adaptado por GRANOTEC, 2009

Propiedades químicas

Perfil de ácidos grasos determinada mediante: cromatografía de gases

Índice de peróxido

Índice de acidez

Índice de saponificación

Materia insaponificable

Índice de yodo

Índice de color

Para los índices se tomo del manual de aceites y grasas comestibles de Madrid, *et,al* ,1997.

Propiedades funcionales

Tocoferoles: cromatografía líquida de alta resolución en una columna de gel de sílice

Contenido de polifenoles: método de la AOAC, 1996 adaptado en el Dep. de Nutrición y Calidad del INIAP

Contenido de taninos: método de la AOAC, 1996 adaptado en el Dep. de Nutrición y Calidad del INIAP.

Contenido de antocianinas: método espectrofotométrico adaptado en el Dep. de Nutrición y Calidad del INIAP.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características físicas

Amilosa y amilopectina

El análisis de varianza muestra que existe diferencia significativa en el contenido de amilosa de los cinco tipos de maíz. Se determinó que el almidón de los ecotipos morado y amarillo duro, alcanzaron los mayores valores (23,49 y 22,24 %, respectivamente), ubicándose en el primer rango estadístico, lo que posiblemente influirá en su comportamiento viscosográfico y en la digestibilidad. En orden de concentración sigue el maíz negro con 22,04 % de amilosa, seguido por el maíz rojo con 20,86 % y el amarillo suave con 20,85 %).

Tamaño y apariencia de los gránulos de almidón

Para determinar el tamaño, se midió el diámetro de los ejes mayor y menor en 10 gránulos. Los gránulos del almidón de maíz negro son de menor tamaño, con 20,57 µm para el eje mayor y 17,54 µm para el eje menor, mientras que los gránulos de almidón del maíz rojo, mostraron las mayores dimensiones 21,64 µm eje mayor y 18,52 µm eje menor.

Temperatura de gelatinización

El análisis de varianza muestra que la temperatura de gelatinización varía ligeramente por efecto del ecotipo de maíz. Registrando los valores más bajos (61- 61,36), para los ecotipos amarillo suave y duro, que se ubicaron en el primer rango estadístico; la temperatura de gelatinización de los ecotipos morado, negro y rojo no varió significativamente, ubicándose en el segundo rango estadístico, (62-63).

Propiedades reológicas

Comportamiento amilográfico

Por medio del amilógrafo Brabender se observó el cambio de viscosidad. Notándose la facilidad de

cocimiento de la harina del ecotipo negro (26min.) seguido por el ecotipo amarillo suave (29min.) y morado (31min.). No así el ecotipo rojo que requiere 33min para alcanzar el grado de cocción adecuado para el consumo. Sin embargo, la harina con mayor facilidad de cocción es la del trigo comercial (20 min.).

El análisis farinográfico y extensográfico se realizó con las harinas experimentales de maíz, utilizando como testigos positivos harinas de trigo, integral y comercial. Sin embargo con las primeras no se obtuvo ningún parámetro indicativo de la aptitud de estas harinas para la formación de masa.

Propiedades funcionales

Poder de hinchamiento y % de solubilidad.

Para los diferentes almidones de maíz, se determino el porcentaje de solubilidad y el poder de hinchamiento. Los datos experimentales, muestran que los almidones de los ecotipos rojo (3,65), morado (2,94), presentan una mayor solubilidad en agua, con respecto al maíz amarillo suave (1,88), negro (1,85) y amarillo duro (1,72).

Los resultados muestran diferencia estadística en el poder de hinchamiento del almidón de los diferentes ecotipos de maíz, ubicándose en el primer rango, el ecotipo amarillo suave con un valor de 2,39; seguido por el ecotipo amarillo duro (2,30).

Actividad alfa amilasa

La actividad alfa amilásica es expresada como el número de caída (falling number) y mientras mayor es este valor, menor es la actividad enzimática en las harinas. Concluyendo que las harinas de maíz amarillo (441-451), rojo (392-400), negro (321-331) y morado (354-364), presentan baja actividad alfa-amilásica, debiendo recurrir a procesos como la germinación para elevar el contenido de enzimas, que permita utilizar estas harinas en la elaboración de bebidas fermentadas.

El valor de este parámetro junto con los valores de extensibilidad y elasticidad, permiten no recomendar el uso integral de estas harinas para la industria de panificación.

Propiedades Químicas del aceite de maíz

Perfil de ácido grasos

En general el aceite de maíz es rico en ácidos grasos de cadena larga (14-20 carbonos) de tipo insaturado, con 34,83 % de ácido oleico; 48,61 % de ácido linoleico y 1,23 % de ácido linolénico para el ecotipo amarillo. Al ecotipo rojo caracterizan 33,42 % de ácido oleico, 50,65 % de ácido linoleico y 1,25 % de ácido linolénico. El maíz negro presenta, 32.52% ácido oleico, 50.25% ácido linoleico y 1.29% ácido linolénico; un perfil semejante caracteriza al maíz morado con 32.52 % ácido oleico, 49.78 % ácido linoleico; 1.19 % ácido linolénico.

La composición de ácidos grasos de los ecotipos de maíz en estudio, corresponde a la de un aceite comestible normal y cumplen con la normatividad establecida por el Codex Alimentarius, pudiendo destinarse a la alimentación humana, producción de

margarinas, mayonesas y como ingrediente de aderezos para ensaladas, helados, sopas, sustitutos de crema para café, panificación, chocolates, botanas, mantecas vegetales y aceites para cocinar, (Montiel, et al, 2007).

Índice de peróxidos

Al analizar estadísticamente estos valores, se determinó que el aceite de los ecotipos rojo, negro y la soya, con un menor índice de peróxido se ubican en el primer rango estadístico, no así los ecotipos morado y amarillo, se ubican en el segundo rango estadístico con valores entre 4,17 y 4,87 mEq/kg aceite. El aceite del ecotipo de maíz rojo presenta el menor índice de peróxido, (1,31 mEq/kg aceite), posiblemente debido a la presencia de antioxidantes naturales como los tocoferoles, las vitaminas A y E. Los valores obtenidos se enmarcan en los límites establecidos por el Reglamento Técnico-Sanitario para aceites vegetales, (≤ 10 mEq. oxígeno/kg. de grasa).

Índice de acidez

Según Pearson (1988), el índice de acidez es una medida del grado al cual se descomponen los glicéridos del aceite por acción de la lipasa o por alguna otra causa. Es un parámetro que no guarda relación alguna con las características sensoriales del aceite y es indicativo de la condición y comestibilidad de los aceites.

Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente, determinándose que el aceite de soya tiene un menor índice de acidez que los aceites de maíz, entre estos no se encontró diferencias significativas ubicándose en el segundo rango estadístico.-

Según las Normas del Codex (2003), el índice de acidez recomendado para el aceite de maíz es de 4 mg KOH/g aceite como máximo, y para la soya es 0.6 mg KOH/g como máximo. Los valores del aceite de maíz se encuentran dentro de los límites permisibles establecidos por la Norma Codex e indican que los aceites proceden de granos sanos y se han extraído en óptimas condiciones.

Índice de saponificación

La mayoría de los aceites analizados presentan índices de saponificación semejantes en el intervalo de 188-196 mg KOH /g. La norma ecuatoriana N° 40 1973, establece para el aceite de maíz un índice de saponificación de 187 a 195 mg KOH /g., mientras que la norma Codex para el aceite de soya establece como límites valores entre 189 a 195 mg KOH/g.

El análisis de varianza muestra que existen diferencias significativas entre los diferentes tipos de aceites, y a través de la prueba de Tukey con un nivel de significancia $\alpha = 0.05\%$, se determinó que el aceite de maíz rojo con un índice de saponificación de 186 mg KOH, se ubica en el primer rango estadístico (a). Los aceites de soya y maíz amarillo presentaron un índice de saponificación semejante, alrededor de 189 mg KOH/g.

Índice de yodo

El análisis de varianza muestra que existe diferencia significativa para el índice de yodo de los diferentes aceites, así el aceite del maíz negro presentó 112.7; el maíz morado 114.5; el aceite de maíz rojo

111.3, el aceite de maíz amarillo 109.9, y el aceite de soya 121.82.

La norma INEN N° 37 establece como normal un rango de variación entre 103 a 128 (máximo). Para la soya, la norma CODEX, fija valores entre 104 a 120 (máximo).

Según el índice de yodo, los aceites de maíz podrían catalogarse como aceites semisecantes, con menor grado de insaturación (menor índice de yodo) que el aceite de soya.

Materia insaponificable

La Norma INEN N° 41, establece que el valor máximo de materia insaponificable para el aceite de maíz, es del 2 %. Los aceites de los ecotipos de maíz en estudio presentan valores entre 1,46-1,65 %, valores mayores al del aceite de soya, posiblemente debido a un ineficiente sistema de refinación y desodorización.

Se determinó el contenido de materia insaponificable en el aceite de soya (0,33%), obteniéndose un valor menor que el aceite de maíz amarillo con 1,46 %. El maíz negro presenta mayor contenido de material insaponificable (1,66 %).

Índice de color

El índice de color es aplicable en aceites que presenten tonalidades que van desde el amarillo al verde. Realizando una comparación entre un estándar de color con la muestra de aceite.

El aceite del maíz negro requirió 7 ml de azul de bromotimol para alcanzar una intensidad de 25. Mientras que los aceites del maíz morado y rojo, presentaron intensidades de 0 y 75 con 6 ml de azul de bromotimol, valores que están dentro de las normas establecidas por el Reglamento Técnico-Sanitario de los aceites vegetales comestibles.

Tocoferoles

El maíz morado presenta una mayor concentración (109,5 ppm) de α -tocoferol y α -tocotrienol (114,7 ppm), mientras que el maíz negro es rico en β -tocoferol y δ -tocotrienol (10,4 ppm); en el maíz amarillo suave sobresale el γ -tocoferol (720,4 ppm) y el δ -tocoferol. Sin embargo el aceite de soya supera al de maíz en el contenido de α , β , γ y δ -tocoferol, con ausencia de α , γ y δ -tocotrienol, compuestos que están presentes en cantidades significativas en el aceite de palma.

Un mejor contenido de tocoferoles presenta el aceite de maíz morado, luego el del maíz amarillo, el maíz rojo y por último el de maíz negro.

Compuestos fenólicos

Luego de analizar estadísticamente el contenido de antocianinas presentes en los ecotipos, se determinó que el mayor contenido de antocianinas, corresponde al ecotipo de color negro (1.81ppm), y en menor proporción al maíz morado 0.36 ppm; rojo 0.05 ppm y amarillo 0.04 ppm.

Respecto a los polifenoles, el mayor contenido corresponde al maíz negro con 57.82 mg/100g, seguido por el maíz morado con 31.01 mg/100g; el maíz rojo

con 16.25 mg/100g y con un contenido mínimo para el maíz amarillo 1.84 mg/100g.

Los taninos se encuentran en mayor cantidad en el ecotipo de maíz negro con 82.7 mg/g, en comparación con el maíz morado (51.0 mg/g); el maíz rojo (23.1 mg/g) y el maíz amarillo con 15.6 mg/g. Concluyendo que el ecotipo de color negro es una buena fuente de taninos lo que eleva su valor como alimento funcional y de múltiples usos en varios campos industriales.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permiten concluir que el maíz nativo “racimo de uva” puede ser considerado un alimento funcional con propiedades nutritivas, antioxidantes y funcionales. Los componentes de mayor interés son el almidón y el aceite. Al primero se lo caracteriza por su viscosidad máxima (1480 U.B) y facilidad de cocción, mientras que el aceite es recomendable para el consumo humano ya que cumple con los requisitos establecidos en el Reglamento Técnico-Sanitario para aceites vegetales y la norma CODEX.

Estos compuestos pueden también servir como materia prima para la elaboración de productos alimentarios, cosméticos y farmacológicos. Además tienen utilidad industrial como retardadores de la rancidez en los aceites comestibles o alimentos con alto contenido de grasa,

BIBLIOGRAFÍA

Bernardini, E; Baquero, F. 1986. Tecnología de aceites y grasas. Editorial Alhambra Mexivana. S.A. de C.V. Impreso en España. Pp. 85-96.

Callejo, M. J. 2002. Industrias de Cereales y derivados. Madrid-España. Editorial Mundi-Prensa libros, S.A. Impreso Iragra, S.A., Bárdala. Pp. 18-19.

Cueto, B; Pérez, E; 2007. Propiedades reológicas de la mezcla lista para torta elaborada con harina compuesta Trigo: Yuca. Alimentos Ciencia e Ingeniería. Vol. 16(1). Pp. 133-136.

Chávez, A. 2000. Maíz morado peruano (*Zea mays*, L. amilaceae st.), Instituto Nacional de Investigación Agraria, Lima- Perú. Pp. 20.

Fermín. 1993. Usos de las harinas compuestas en productos de cereales. Productos horneados a base de trigo. Instituto de Ciencia y Tecnología de alimentos de la facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. Caracas. Pp. 23.

Granotec. 2009. Análisis de la actividad de alfa amilasa. Guayaquil-Ecuador.

Locken,L; Loska,S. 1991. The farinograph physical testing methods. American Associations of Cereal Chemists.St.Paul.Mina.USA. Pp.105.

Madrid, A; Cenzano, I; Vicente; 1997. Manual de aceites y grasas comestibles. Editorial Mundi prensa. Madrid-España. Pp. 145-186.

Manrique, A. 2000. Maíz Morado Peruano. Impreso en Lima-Perú. Instituto Nacional de Investigación Agraria. p. 5-6. (Serie Folleto R.I. N°04-00).

Montiel, E. Suarez, A. 2007. Maíz.- Ácidos grasos. Instituto Nacional de Nutrición. Publicación N° 52. Serie Cuadernos Azules. Caracas-Venezuela. Pp. 10-25.

Moreno, Yolanda. 2003. Relación de amilosa y amilopectina en el almidón de harina nixtamalizada de maíz y su efecto en la calidad de la tortilla. Revista fitotecnica Mexicana, abril-junio. Vol. 26. # 002. Universidad Autónoma del Estado de México. Pp. 115-121.

Noroña, Javier. 2008. Caracterización y evaluación agro morfológica de 64 accesiones de maíz negro y 27 de maíz chulpi (*Zea mays*.L.), colectados en la serranía del ecuador en la EESC-INIAP. Quito- Ecuador. EPN Escuela politécnica Nacional.Pp.5-7.

Pearson, E.1988. Métodos de análisis de alimentos. Editorial Acribia, Zaragoza-España. Pp. 50-69.

Primo Yufera, E. 1987. Química Agrícola de Alimentos III. Editorial Alambra. Impreso en España. p. 50-70.

Ramírez, M.; Williams, D. 2005. Guía Agro-Culinaria de Cotacachi Ecuador y Alrededores. Cali, IPGRI-Américas, FERIVA, Colombia. p. 27-28.

Requena, F.2003. Efecto del grano de acetilación sobre las propiedades fisicoquímicas y reológicas del almidón de arroz. (*Orizae sativa* L.). Tesis de grado. Facultad de Ciencias. Escuela de Biología. Universidad Central de Venezuela- Caracas. Pp. 123.

Villacrés, E; Brito, B. 1996. Evaluación del rendimiento, características y propiedades del almidón de algunas raíces y tubérculos Andinos. Conferencia Internacional Almidón. Propiedades físico –químicas, funcionales y nutricionales. Usos. Quito – Ecuador. Vol.8. Pp. 25-30.

Yáñez, C., Zambrano J., Caicedo, M., Sánchez, V., Heredia, J. 2003. Catálogo de Recursos Genéticos de Maíces de Altura Ecuatorianos. INIAP, Programa de Maíz. Quito-Ecuador, p. 1,125 y 127.

Yáñez, C. 2007. Manual de producción de maíz para pequeños agricultores y agricultoras. INIAP, Programa de Maíz. Quito-Ecuador, p. 5, 2.

DETERMINACIÓN DE LOS PRINCIPALES INDICADORES EN EL TIEMPO DE VIDA DE ANAQUEL DE PANELA GRANULADA DE LAS UNIDADES PRODUCTIVAS INGAPI Y EL PARAÍSO CON FINES DE EXPORTACIÓN AL MERCADO NORTEAMERICANO

DETERMINATION OF MAIN INDICATORS IN SHELF LIFE OF UNREFINED SUGAR OF CANE OF THE UNITS CRAFT PRODUCTION INGAPI AND EL PARAÍSO WITH EXPORT PURPOSES TO NORTH AMERICAN MARKET

Acurio Liliana, Lara Nelly y Alvarado Juan de Dios

Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Universidad Técnica de Ambato.
Ambato - Ecuador

Departamento de Nutrición y Calidad, Estación Experimental Santa Catalina,
Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). Quito,
Ecuador

email: lili_ap13@hotmail.com

RESUMEN

Muestras de panela granulada procedentes de las unidades productivas Ingapi y El Paraíso, fueron conservadas durante 91 días en condiciones normales (26°C/50%HR), aceleradas (32°C/75%HR) y extremas (38°C/100%HR); evaluando los cambios en los siguientes indicadores de calidad: humedad, actividad del agua, granulometría, poder de compactación, fuerza de corte y azúcares invertidos. Para los cálculos de vida útil a temperatura constante, se utilizaron ecuaciones lineales que relacionan el incremento de la humedad y de actividad de agua frente al tiempo de almacenamiento, tomando como referencia parámetros bibliográficos a los cuales se asegura la calidad y seguridad antes del consumo.

Palabras clave: panela granulada, tiempo de vida de anaquel, humedad, actividad de agua, granulometría, poder de compactación, fuerza de corte, azúcares invertidos, energía de activación.

SUMMARY

Granulated sugar samples from craft production of the units Ingapi and El Paraíso, were kept for 91 days in normal conditions (26°C/50% RH), accelerated (32°C/75% RH) and extreme (38°C/100% RH); analyzing changes in the following indicators of quality: moisture, water activity, granulometry, compaction power, cutting force and invert sugars. To calculate shelf life at constant temperature used linear equations that relate the increase in the moisture and water activity against storage time, with reference bibliographic parameters which ensure the quality and safety before consumption.

Key words: granulated sugar craft, unrefined cane sugar, shelf life, moisture, water activity, granulometry, compaction power, cutting force, invert sugars, activation energy

INTRODUCCIÓN

Se denomina panela a un edulcorante tradicional elaborado a partir de caña de azúcar por batido manual y deshidratación simultánea (124 - 126°C), a diferencia del azúcar refinado la panela no se somete a purificación y refinamiento de cristales (Solís, 2009). El contenido de azúcares final varía de acuerdo al genotipo de la caña panelera, época

de cosecha, manejo de extracción y post-extracción del jugo.

Se estima que el tiempo de vida de anaquel de la panela granulada puede variar en función a las diferentes condiciones de almacenamiento y pone en relieve la necesidad de establecer el grado de estabilidad en términos de azúcares invertidos, distribución granulométrica y compactación de

los gránulos (Poaquiza, 2008).

El agua libre es una condición importante en este tipo de alimentos, ya que al no estar físicamente unida a la matriz del alimento se puede deshidratar, disminuyendo proporcionalmente la mayoría de las reacciones químicas implicadas en el deterioro (Kirk et al., 1999; Labuza, 1982). Además es un producto higroscópico lo que contribuye a la formación de aglomerados que limitan la posterior solubilidad de los azúcares.

La actividad de agua (*aw*) es un parámetro estrechamente ligado a la humedad del alimento y es el mejor indicador de su perecibilidad (Pawkit, 2001). La *aw* influye en el color, olor, sabor, textura y vida útil de muchos productos, además predice la estabilidad con respecto al crecimiento microbiano.

Otro de los aspectos de importancia tanto en el control de calidad de azúcar refinada como de panela granulada es la determinación del tamaño de partícula por tamizado o granulometría, que determina la abundancia de cada uno de los tamaños previstos por una escala granulométrica (Chen, 1991; Lambe & Whitman, 1997).

Al ser la panela un alimento pulverulento interesa hacer pruebas de compactación para evaluar el comportamiento de las partículas al estar obligadas al contacto, además de evaluar la relación del tiempo de vida útil con el aumento de la resistencia, la disminución de la capacidad de deformación, el aumento del peso específico seco y la disminución de vacíos (Universidad Católica del Norte, 2009).

La estimación de azúcares invertidos producto de la hidrólisis fundamentalmente de la molécula de sacarosa por vía enzimática o por procedimientos fisicoquímicos (generando una cantidad equivalente de glucosa y fructosa), se incluye como parámetro de evaluación como indicador de los posibles cambios de color.

Existen varios mecanismos de degradación del alimento, los principales corresponden al color, textura, sabor y nutrientes (Speigel, 1989). Para estimar los periodos de vida útil, se necesita conocer los mecanismos principales de deterioro según los métodos de conservación aplicados (Alvarado, 1996).

Se define como vida útil al periodo de tiempo transcurrido entre la producción y el consumo de un producto alimenticio, determinado por el nivel satisfactorio de calidad, el valor nutritivo, así como el sabor, textura y apariencia (Cabral, 1980). Varía de acuerdo al procesamiento, la naturaleza del producto y el almacenamiento; obteniéndose cambios a niveles microbiológicos, sensoriales y/o físico-químicos (Labuza, 1982).

La razón incremental de factores causantes de deterioro en función de la temperatura puede ser explicada mediante el modelo de Arrhenius (Rao, 1977).

$$k = k_A \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right)$$

Donde: *k* es la razón incremental de factores de deterioro, *k_A* es la constante pre-exponencial, *E_a* es la energía de activación de Arrhenius [J/g.mol] que determina la sensibilidad de la reacción de deterioro, *R* es la constante ideal de los gases (8,314 joules/g.mol K), *T* es la temperatura en Kelvins.

El objetivo de este trabajo fue determinar los indicadores que mejor predicen la vida útil de panela granulada almacenada en condiciones normal, acelerada y extrema.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

La panela granulada procede de las unidades productivas Ingapi y El Paraíso, ubicadas en la parroquia Pacto al noroccidente de Quito.

Almacenamiento

Se almacenaron paquetes de 170 g de panela granulada empacados en fundas de polipropileno, a tres condiciones de almacenamiento: normal (26°C/HR=50%), acelerada (32°C/HR=75%) y extrema (38°C/HR=100%) (Speigel, 1989).

Humedad

La determinación de humedad se efectuó de acuerdo al método de la AOAC 925.45 (1996), que consiste en evaluar por diferencia de pesos el porcentaje de humedad de una muestra de 2 g al ser sometida a 105°C±2°C durante 12 horas.

Actividad del agua

Se colocó aproximadamente 2 g de muestra homogénea en la cámara del equipo Pawkit y se siguió el protocolo descrito por el proveedor (Pawkit, 2001).

Granulometría

Una adaptación de la norma INEN (2002), permitió evaluar el tamaño de gránulo, empleando una plancha de agitación con un juego de tamices metálicos. Los resultados se expresaron en porcentajes de fracciones retenidas, comprendidos

entre los rangos: $> 1000 \mu\text{m}$; $600 \mu\text{m} < x \leq 1000 \mu\text{m}$; $425 \mu\text{m} < x \leq 600 \mu\text{m}$ y $x \leq 425 \mu\text{m}$.

Poder de Compactación

Se utilizó el analizador de textura TA-XT2i y el accesorio cilíndrico P/25P de material perspex (2,50cm de diámetro), complementariamente se destinó un envase tubular plástico donde se colocó la muestra hasta una altura de 2 cm. La muestra fue uniformemente compactada (5mm) bajo la presión ejercida por el brazo del texturómetro con una fuerza de carga de 25 kg (adaptación del método de Listiohadi et al., 2008).

Fuerza de Corte

Se elaboraron pastillas de panela granulada a partir de 2 g de muestra compactada con una prensa Carver, ejerciendo una fuerza de 6000 lb. Las pastillas de panela granulada se sometieron a una evaluación de fuerza de corte en el analizador de textura TA-XT2i con el accesorio cuchillo Craft, ejerciendo una fuerza de carga de 25 kg sobre las pastillas de panela (Domínguez, 2008).

Azúcares Invertidos

La determinación de azúcares invertidos se realizó con el método oficial 923.09 (44.1.15) de la AOAC (1995).

Análisis Estadístico

El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante un análisis de la varianza (ANOVA) con un nivel de significación empleando el software Statgraphics Plus, versión 5.1.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Humedad

La humedad representada frente al tiempo de almacenamiento exhibe una tendencia lineal ascendente (Fig.1), la panela granulada tiende a buscar el equilibrio con el medio de almacenamiento y el embalaje de polipropileno no constituye una barrera protectora óptima.

Las ecuaciones que describen la tendencia lineal observada en la Figura 1, permiten la estimación del tiempo de vida de anaquel (Tabla 1), fijando la humedad en un valor de 3% con el que la panela mantiene sus condiciones óptimas para la comercialización (Norma INEN, 2002). Las condiciones de almacenamiento presentan diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza del 95%.

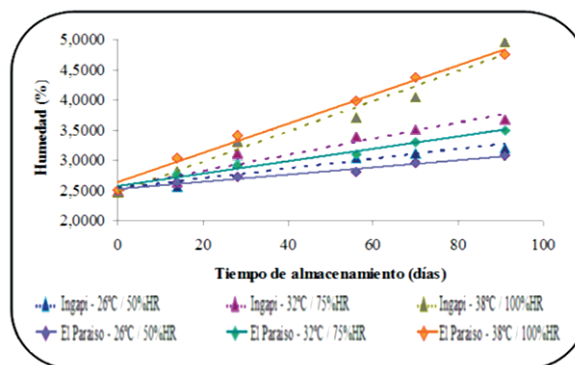


Figura 1. Humedad en función al tiempo

*tres determinaciones por réplica (n=3)

Tabla 1. Predicción del tiempo de vida útil en función del % de humedad

Unidad Productiva	Condiciones de Almacenamiento	Ecuación	r	Tiempo de vida de anaquel [días]
INGAPI	Normal	$H = 2,54 + 0,0080 \times t$	0,94	57,5
	Acelerada	$H = 2,55 + 0,0132 \times t$	0,97	34,1
	Extrema	$H = 2,46 + 0,0249 \times t$	0,99	21,7
EL PARAÍSO	Normal	$H = 2,53 + 0,0059 \times t$	0,99	79,7
	Acelerada	$H = 2,57 + 0,0101 \times t$	0,99	42,6
	Extrema	$H = 2,62 + 0,0240 \times t$	0,99	15,8

Actividad del Agua

La relación entre la actividad del agua (a_w) y el tiempo de almacenamiento presenta una tendencia lineal ascendente (Figura 2), con diferencias estadísticas significativas entre las condiciones de almacenamiento y las unidades productivas.

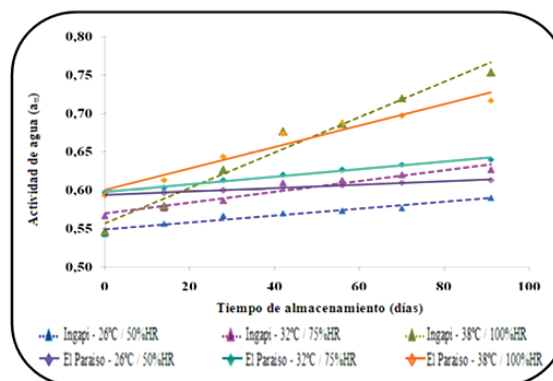


Figura 2. Actividad del agua en función al tiempo

*tres determinaciones por réplica (n=3)

Los componentes principales de la panela granulada son la sacarosa, glucosa y fructosa, conformando el 92,05% en las muestras procedentes de la unidad Ingapi y el 89,97% en las muestras de El Paraíso (Clavijo, 2008); estudios de isotermas revelan que dichos azúcares no son higroscópicos hasta que la a_w supere un valor de 0,6 (Martínez et al., 2011). Es decir a partir de una a_w de 0,61 no se asegura la estabilidad comercial, este parámetro sirve para calcular la vida útil de la panela granulada a partir de las ecuaciones lineales obtenidas de la Figura 2. Considérese la diferencia entre el tiempo de vida de anaquel obtenido con los datos de humedad (Tabla 1) y los

valores calculados a partir de a_w (Tabla 2).

Tabla 2. Predicción del tiempo de vida útil en función de la actividad del agua

Unidad Productiva	Condiciones de Almacenamiento	Ecuación	r	Tiempo de vida de anaquel [días]
INGAPI	Normal	$a_w = 0,56 + 0,0003 \times t$	0,97	166,7
	Acelerada	$a_w = 0,57 + 0,0007 \times t$	0,97	57,1
	Extrema	$a_w = 0,56 + 0,0023 \times t$	0,99	21,7
EL PARAÍSO	Normal	$a_w = 0,59 + 0,0002 \times t$	0,99	100
	Acelerada	$a_w = 0,59 + 0,0005 \times t$	0,99	40
	Extrema	$a_w = 0,60 + 0,0014 \times t$	0,98	7,1

Granulometría

En condiciones iniciales las partículas de panela granulada de Ingapi tienen un tamaño entre 600 y 1000 μm (aproximadamente el 65%) (Figura 3), se observan cambios a los 90 días de almacenamiento con la disminución del tamaño de un 10% de partículas a valores entre 425 y 600 μm en condiciones normales (26°C/50%HR) y aceleradas (32°C/75%HR). La variación más importante ocurre en condiciones extremas (38°C/100%HR) donde por fenómenos de agregación y formación de conglomerados, las fracciones predominantes pasan a ser partículas mayores a 1000 μm (90%) (Figura 4).

La panela granulada de El Paraíso inicialmente posee una distribución homogénea de partículas; a los 90 días de almacenamiento se observa una ligera disminución de tamaño, incrementando la fracción de partículas menores a 425 μm en condiciones normales (26°C/50%HR) y aceleradas (32°C/75%HR). En condiciones extremas (38°C/100%HR) la fracción predominante es la comprendida entre 600 y 1000, μm representando el 51,61%; el incremento corresponde a la aglomeración de partículas de menor tamaño.

Es evidente como el incremento de humedad del producto repercute en el fenómeno de asociación, formando aglutinaciones de partículas de menor tamaño; dicho fenómeno constituye un problema de calidad si no se conserva el producto en condiciones óptimas de almacenamiento.

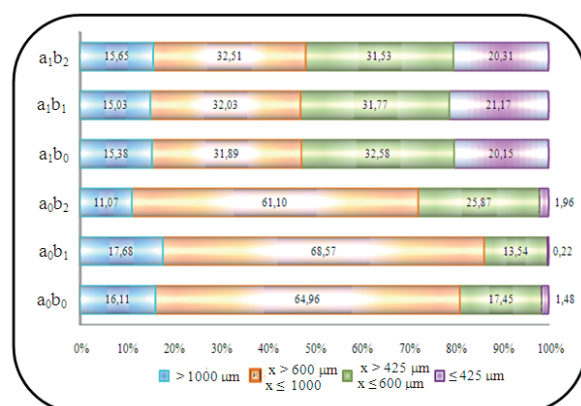


Figura 3. Granulometría inicial

*una determinación por réplica (n=3); a0: Ingapi, a1: El Paraíso, b0: 26°C/50%HR; b1: 32°C/75%HR, b2: 38°C/100%HR

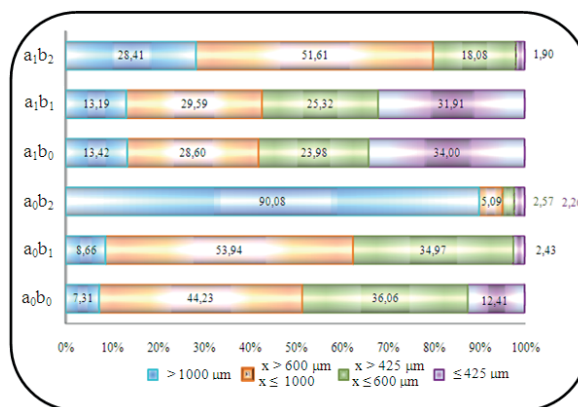


Figura 4. Granulometría a 91 días de almacenamiento.

*una determinación por réplica (n=3); a0: Ingapi, a1: El Paraíso, b0: 26°C/50%HR; b1: 32°C/75%HR, b2: 38°C/100%HR

Poder De Compactación

A partir de las gráficas de fuerza de compactación obtenidas del Texturómetro (TA-XT2i) se calculó la presión necesaria (Pa) para comprimir las muestras, manteniendo constante el peso, el tiempo y área de compresión (Figura 5).

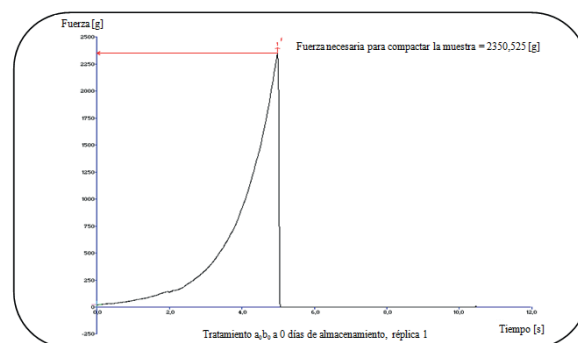


Figura 5. Fuerza necesaria para compactar panela granulada, utilizando un Texturómetro (TA-XT2i)

La fuerza necesaria para compactar la panela granulada en función del tiempo de almacenamiento, presenta una tendencia descendente inversa [$y = 1 / (a + b \times x)$] (Tabla 3). Es evidente que la ganancia de humedad por parte de las muestras repercute sobre la estructura de los gránulos de panela, permitiendo que la fuerza necesaria para compactar descienda considerablemente; dicho efecto es más considerado en las muestras almacenadas en condiciones extremas (38°C/HR=100%) (Figura 5).

Al comparar la información con los resultados obtenidos en granulometría, se ratifica la facilidad de formar aglomerados cuando las partículas sobrepasan los límites de humedad, como consecuencia de la migración de agua desde el ambiente de almacenamiento.

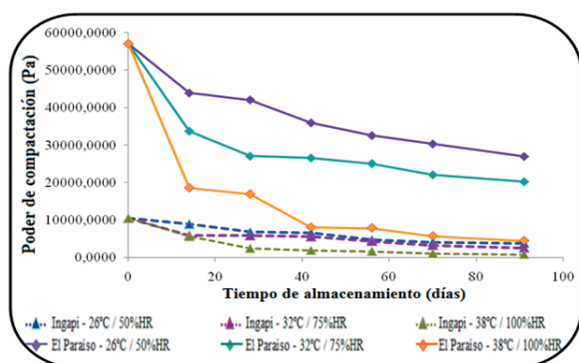


Figura 6. Poder de compactación en función al tiempo

*tres determinaciones por réplica (n=3)

Además el análisis estadístico corrobora lo que gráficamente es evidente, existe una diferencia estadística significativa ($p < 0,05$) entre las unidades productivas y las condiciones de almacenamiento sobre el indicador fuerza de compactación. Partiendo de que la distribución granulométrica de la panela granulada depende de las condiciones de procesamiento utilizadas por las unidades productivas Ingapi y El Paraíso, se puede asegurar que la fuerza necesaria para compactar la muestra depende de la distribución granulométrica y a su vez de la composición del alimento, especialmente de la humedad.

Tabla 3. Poder de compactación (P_{com}) en [Pa] en función del tiempo de vida de anaquel

Unidad Productiva	Condiciones de Almacenamiento	*Ecuación	r
INGAPI	Normal	$P_{com} = 1 / \{ (8,86 \times 10^{-5}) + [(2,00 \times 10^{-6}) \times t] \}$	0,98
	Acelerada	$P_{com} = 1 / \{ (9,12 \times 10^{-5}) + [(2,97 \times 10^{-6}) \times t] \}$	0,96
	Extrema	$P_{com} = 1 / \{ (3,98 \times 10^{-5}) + [(1,23 \times 10^{-7}) \times t] \}$	0,99
EL PARAISO	Normal	$P_{com} = 1 / \{ (1,86 \times 10^{-5}) + [(2,07 \times 10^{-7}) \times t] \}$	0,99
	Acelerada	$P_{com} = 1 / \{ (2,32 \times 10^{-5}) + [(3,10 \times 10^{-7}) \times t] \}$	0,95
	Extrema	$P_{com} = 1 / \{ (1,46 \times 10^{-5}) + [(2,24 \times 10^{-6}) \times t] \}$	0,99

r = Coeficiente de correlación; *tres determinaciones por réplica (n=3)

Fuerza de Corte

A partir de las gráficas proporcionadas por el Texturómetro (TA-XT2i) se evaluó los gramos fuerza necesarios para fracturar las pastillas de panela manteniendo constante el peso, la distancia y área de corte (Figura 7).

Los datos experimentales expresados gráficamente (Figura 8), aportan a la comprensión de la tendencia descendente inversa [$y = 1 / (a + b \times x)$], que los tratamientos presentan en el almacenamiento. Existe diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las unidades productivas y las condiciones de almacenamiento (Tabla 4).

Es preciso comentar que la compactación ejercida por la prensa en la elaboración de las pastillas de panela granulada es un parámetro constante; además, si bien se ha destacado la formación de aglomerados a altas humedades relativas, se puede suponer que la superficie de las partículas

estará deformada y humedecida lo que evitará la formación de fuertes enlaces interpartícula.

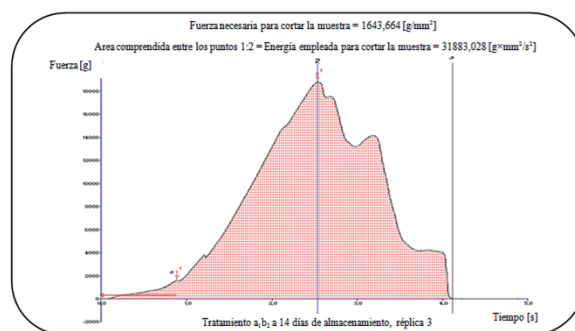


Figura 7. Fuerza necesarias para cortar pastillas de panela granulada, utilizando un Texturómetro (TA-XT2i)

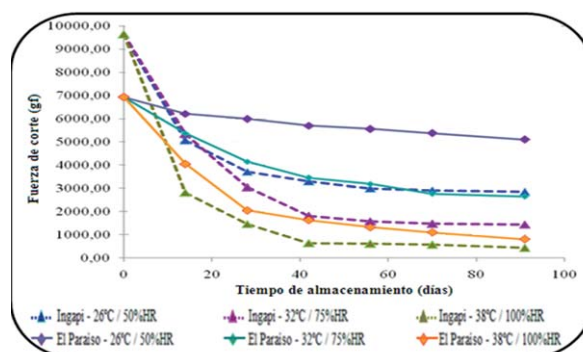


Figura 8. Fuerza de corte en función del tiempo

*cinco determinaciones por réplica (n=3)

Debido a la baja humedad que tiene la panela granulada al finalizar el proceso de elaboración (2,62% para Ingapi y 3,05% para El Paraíso) se considera un alimento altamente higroscópico, capaz de generar recristalización con una cantidad mínima de agua aportada por el entorno. Así, el agua ganada durante el almacenamiento provoca un descenso en el punto de fusión debido a la disminución de las fuerzas intermoleculares (Clavijo, 2008; Mauleón, 2007).

La disminución de dichas interacciones intermoleculares se refleja en el ensayo de fuerza de corte, especialmente en las muestras que han ganado humedad del ambiente considerablemente; de ahí la importancia de utilizar envases herméticos que eviten la migración de agua y ambientes de almacenamiento con una humedad relativa inferior al 30% (Academia del área de plantas piloto de alimentos, 2004)

Tabla 4. Fuerza de corte (F_{cor}) en [gf] en función del tiempo de vida de anaquel

Unidad Productiva	Condiciones de Almacenamiento	*Ecuación	r
INGAPI	Normal	$F_{cor} = 1 / \{ (1,60 \times 10^{-4}) + [(2,61 \times 10^{-6}) \times t] \}$	0,91
	Acelerada	$F_{cor} = 1 / \{ (1,41 \times 10^{-4}) + [(7,25 \times 10^{-6}) \times t] \}$	0,95
	Extrema	$F_{cor} = 1 / \{ (1,21 \times 10^{-4}) + [(2,53 \times 10^{-5}) \times t] \}$	0,97
EL PARAISO	Normal	$F_{cor} = 1 / \{ (1,50 \times 10^{-4}) + [(5,26 \times 10^{-7}) \times t] \}$	0,98
	Acelerada	$F_{cor} = 1 / \{ (1,58 \times 10^{-4}) + [(2,69 \times 10^{-6}) \times t] \}$	0,98
	Extrema	$F_{cor} = 1 / \{ (1,18 \times 10^{-4}) + [(1,19 \times 10^{-5}) \times t] \}$	0,99

r = Coeficiente de correlación; *5 determinaciones por réplica (n=3)

Azúcares Invertidos

La respuesta experimental expresada gráficamente aporta a la comprensión de la tendencia lineal ascendente, que los tratamientos presentan durante el almacenamiento (Figura 9).

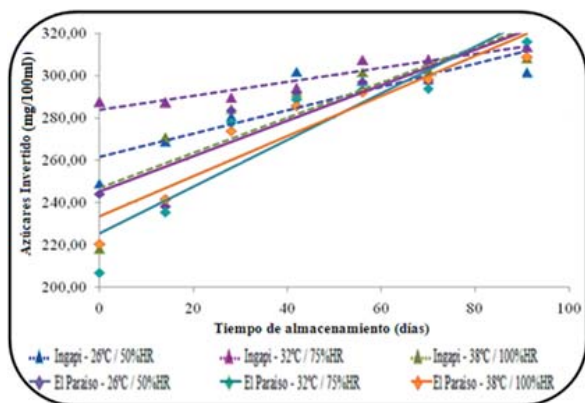


Figura 9. Azúcares invertidos en función del tiempo

*tres determinaciones por réplica (n=3)

Existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las unidades productivas (Ingapi y El Paraíso), y contrariamente a lo esperado las condiciones de almacenamiento (normal, acelerada y extrema) no repercute sobre los azúcares invertidos (Tabla 5).

Para sustentar los resultados estadísticos se analiza el proceso de fabricación de panela granulada, encontrando que la inversión de la sacarosa es un punto crítico de operación; siendo indispensable mantener los extractos a un pH de 7, o ligeramente superior, especialmente en las operaciones a altas temperaturas (Spencer, 1967).

Tabla 5. Azúcares invertidos (AI) en [mg/100ml] en función del tiempo de vida de anaquel

Unidad Productiva	Condiciones de Almacenamiento	*Ecuación	r
INGAPI	Normal	(AI) = $261,71 + 0,5510 \times t$	0,87
	Acelerada	(AI) = $284,02 + 0,3294 \times t$	0,95
	Extrema	(AI) = $246,83 + 0,8321 \times t$	0,85
EL PARAÍSO	Normal	(AI) = $245,26 + 0,8360 \times t$	0,92
	Acelerada	(AI) = $225,66 + 1,1027 \times t$	0,92
	Extrema	(AI) = $233,68 + 0,9466 \times t$	0,94

r = Coeficiente de correlación; *Dos determinaciones por réplica (n=3)

Energía de Interacción

El nivel de energía requerido para las dos unidades productivas fue similar al trabajar con los indicadores de calidad: humedad, actividad del agua, poder de compactación, fuerza de corte. Sin embargo, el modelo Arrhenius no es adecuado para describir la variabilidad de los azúcares invertidos; notándose que la energía por incremento de los azúcares invertidos, es afectada

por las características propias de las muestras.

Aparentemente, el cambio de energía por aumento de la humedad, actividad del agua y fuerza de corte fue relevante, debido al efecto de las características propias de las muestras en experimentación (Tabla 6).

Tabla 6. Valores de la energía de activación para panela granulada almacenada 91 días a 26, 32 y 38°C

<i>Humedad [% , día]</i>		
Unidad Productiva	(EA) [J/g.mol]	r
Ingapi	8,79	0,99
El Paraíso	10,86	0,98
<i>Actividad del agua [a_w, día]</i>		
Unidad Productiva	(EA) [J/g.mol]	r
Ingapi	15,71	0,99
El Paraíso	14,12	0,99
<i>Poder de compactación [Pa, día]</i>		
Unidad Productiva	(EA) [J/g.mol]	r
Ingapi	14,03	0,90
El Paraíso	18,65	0,87
<i>Fuerza de corte [gf, día]</i>		
Unidad Productiva	(EA) [J/g.mol]	r
Ingapi	17,60	0,99
El Paraíso	24,18	0,99
<i>Azúcares invertidos [mg/100 ml, día]</i>		
Unidad Productiva	(EA) [J/g.mol]	r
Ingapi	3,12	0,19
El Paraíso	0,99	0,21

CONCLUSIONES

Los modelos lineales de los indicadores humedad y actividad de agua permiten predecir del tiempo de vida de anaquel, tomando como referencia valores teóricos basados en normas técnicas y estudios de isoterma de sorción. Para los indicadores: granulometría, poder de compactación, fuerza de corte y azúcares invertidos; no se encuentran valores referenciales, pero se consigue evaluar fenómenos importantes de agregación e interacciones entre partículas, planteando interrogantes a considerar en próximas investigaciones.

Las condiciones de almacenamiento tienen un efecto estadísticamente significativo ($p < 0,05$) sobre la razón de la humedad, actividad del agua, poder de compactación y fuerza de corte.

A 26°C y 50% de humedad relativa, fijados en la condición normal, el almacenamiento mantiene estable la panela granulada por un periodo aceptable; sin embargo, es importante considerar que para mantener niveles óptimos de humedad y actividad del agua se requiere un empaque con

características físicas que no permitan interacción con el ambiente con lo que se logrará prolongar la vida de anaquel.

Al elevarse el contenido de humedad durante el almacenamiento los gránulos de panela se aglomeran, cambian de color y disminuyen las interacciones interpartícula; dicha disminución de interacción es la causa principal de la formación de agrupaciones de gránulos, que unida al aumento de actividad de agua puede generar crecimiento microbiano.

AGRADECIMIENTOS

Universidad Técnica de Ambato - Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) - Estación Experimental Santa Catalina - Departamento de Nutrición y Calidad, Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical "Leopoldo Izquieta Pérez"- Departamento de Microscopía Electrónica.

REFERENCIAS

Academia del área de plantas piloto de alimentos, 2004. Introducción a la Tecnología de Alimentos. Limusa S.A. - Grupo Noriega Editores. México.

Alvarado, J. de D., 1996. Principios de Ingeniería Aplicados a Alimentos. OEA-PRDCT. Quito, Ecuador. Radio Comunicaciones. División de Artes Gráficas. Pp: 63-68.

AOAC Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. 1996. Décima sexta edición. Editorial AOAC International. Maryland - Estados Unidos. Volumen II. Método para determinación de humedad 925.45 y Método para determinación de azúcares invertidos 923.09

Cabral ACD, 1980. Aspectos gerais sobre a vida de peletaria de productos alimenticios. Boletín ITAL. Campiñas - Brasil.

Chen, J., 1991. Manual de Azúcar de Caña. Editorial LIMUSA. Noriega. Primera edición. México - DF. Pp: 849

Clavijo A., 2008. Estudio del efecto del uso de jugo de dos genotipos de caña de azúcar previamente descortezada y de la temperatura de la fuente de calentamiento sobre el proceso en la elaboración de panela granulada. Tesis, Ing. Agroindustrial. Quito - Ecuador. Escuela Politécnica Nacional.

Domínguez A. 2008. Evaluación del efecto de tres condiciones de almacenamiento sobre la estabilidad y tiempo de vida anaquel de panela granulada producida por las unidades artesanales en Ingapi y Pacto. Tesis, Ing. Agroindustrial. Quito - Ecuador. Escuela Politécnica Nacional.

INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización), 2002. Norma técnica Ecuatoriana NTE INEN 2332:2002 Panela Granulada. Requisitos. Primera edición. Fecha de publicación: 2002 - 04 - 15. Fecha de aprobación: 2001 - 12 - 20. Acuerdo ministerial: #02093. Fecha acuerdo ministerial: 2002-03-18. Quito - Ecuador. Pp: 1-3.

Kirk, R., Sawyer, R., y Egan, H., 1999. Composición y Análisis de alimentos de Person. Novena edición. D.F. - México. Editorial Compañía editorial Continental S.A. Pp: 10 -14.

Labuza, T., 1982. Shelf Life Dating of Foods. Food y Nutrition Press Inc. Westport United States of America. Pp: 30, 66

Lambe W. y Whitman R., 1997. Mecánica de suelos. Editora Limusa. Mexico. 1997. ISBN 968-18-1894-6 Massachusetts. Editora Limusa. Meico. Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Granulometr%C3%ADa>. Consultado, 25 Feb. 2009.

Listiohadi Y., Hourigan J.A., Sleigh R.W., Steele R.J. 2008. Moisture sorption, compressibility and caking of lactose polymorphs. International Journal of Pharmaceutics. (Australia), Número 359. Pp: 123 - 134.

Martínez N., Andrés A., Chiralt A., Fito P. 2011. Termodinámica y Cinética de Sistemas Alimento Entorno. Editorial Universidad Politécnica de Valencia.

Mauleón M. 2007. Experimental Organic Chemistry. Revisada por: Granados R. McGraw-Hill Book Company. Editorial Reverté S.A. España.

Pawkit, 2001. Operator's Manual water activity meter, version 1.3. Editorial Decagon Devices Inc. Pp: 38 - 47.

Poaquiza, D., 2008. Determinación de Isotermas y Calor de Sorción de Humedad de Panela Granulada Producida por las Organizaciones paneleras de Ingapi y Pacto. Tesis, Ing. Agroindustrial. Quito - Ecuador. Escuela Politécnica Nacional.

Rao, M. A. 1997. Rheology of liquid foods. A review. J. Texture Studies, 8: 135-168.

Solís H. Conformación De Asociaciones De Productores, De Forma Participativa, Caso Productores De Panela En Guayabal, Chiriquí, Panamá. Observatorio de la Economía Latinoamericana, N° 106, diciembre 2008. Revista académica de economía con el Número Internacional Normalizado de Publicaciones Seriadas ISSN 1696-8352. Disponible en: <http://www.eumed.net/cursecon/ecolat/pa/2008/hs.htm>. Consultado, 10 Feb. 2009

Speigel, A., 1989. Shelf life testing. Pp: 358-396.

Spencer M., 1967. Manual del Azúcar de Caña. Barcelona - España. Editorial Montaner y Simon S.A. Pp: 29,

Universidad Católica del Norte, 2009. Departamento De Construcción Civil Laboratorios Docentes Del Área Materiales. Disponible en: <http://www.ucn.cl/FacultadesInstitutos/laboratorio/generalM6.htm>. Consultado, 25 Feb. 2009.

OBTENCIÓN DE LACTO - JUGO A PARTIR DEL CAMOTE (*Ipomea batatas* L.) MEDIANTE PROCEDIMIENTOS BIOTECNOLÓGICOS

Janina Lissette Proaño Miniguano, Gladys Cecilia Navas Miño

Universidad Técnica De Ambato - Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos
Av. Los Chasquis y Río Payamino - Ciudadela Universitaria Huachi
Teléfonos 2400987 / 2400989 lijasse@hotmail.es - glacenam@hotmail.com

RESUMEN

Los *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus plantarum*, proveen efectos beneficiosos sobre el huésped, en este sentido, se les atribuye: ayuda en la digestión de la lactosa, prevención de infecciones intestinales, acción inmunomoduladora, prevención de cáncer y enfermedades cardiovasculares. Esta investigación tiene su importancia en el aprovechamiento de tubérculos como el camote, utilizando probióticos que mejoran y equilibran la microflora intestinal.

El proceso de obtención del lacto-jugo se realizó con la utilización de enzimas (FUNGAMYL) y (AFPL) que actúan en la hidrólisis del almidón, luego se fermenta con la utilización de las bacterias ácido lácticas a una temperatura de 28 ± 2 °C durante 48 horas. Con los datos obtenidos se demostró el efecto que tienen estas bacterias sobre el camote tratado enzimáticamente. Los valores de pH se encuentran en un intervalo de 3,3 a 4,0. Acidez de 0,9 a 1,5 (g ácido láctico/100 g), producto de la formación de ácido láctico durante la fermentación como resultado del metabolismo de los azúcares presentes por parte de los *Lactobacillus*. Además se realizaron análisis del mejor tratamiento como son cenizas, proteína, sólidos totales, carbohidratos totales, energía y análisis microbiológicos según normas reguladas por la AOAC. Conjuntamente con datos de viscosidad que se encuentra influenciada por la utilización de enzimas y la concentración del camote, los sólidos totales y la humedad se midieron luego del proceso de fermentación. Las características sensoriales fueron evaluadas, oscilando entre 1-3 (en una escala hedónica de 1-5) de agrada mucho a moderado gusto, siendo analizadas cinco variables sensoriales.

El trabajo realizado proporciona información sobre el bioproceso para la elaboración de lacto-jugos, a través de la selección de la enzima (Fungamyl) como la de mayor actividad cuando se utiliza camote como sustrato y los *Lactobacillus plantarum* para una mejor fermentación, lo cual influyó en mejorar la presentación y las características tanto sensoriales como microbiológicas, de esta manera se espera ofertar un nuevo producto con características funcionales que satisfaga las necesidades del mercado nacional y que sea accesible para todas las familias.

Palabras claves: enzimas, fermentación ácido láctica, probióticos, tubérculos

ABSTRACT

Lactobacillus casei and *Lactobacillus plantarum* probiotic bacteria, provide beneficial effects on the host in which it lives, therefore they act as on: lactose digestion, prevention of intestinal infections, immunomodulatory action, prevention of cancer and cardiovascular diseases. The present research is important because is related to lacto – juice of sweet potato tubers using the mentioned probiotics aiming to improve and balance the intestinal microflora in human beings.

The process for obtaining lacto-juice was performed with the use enzymes (FUNGAMYL) and (AFPL) to act on starch hydrolysis and then fermented with the use of the above lactic acid bacteria at a temperature of 28 ± 2 °C for 48 hours. The data obtained showed the effect of these bacteria on potato enzymatically treated. The pH values were in the range of 3.3 to 4.0. The Acidity of 0.9 to 1.5 (g lactic acid/100 g), was due as a result of the lactic acid formation during the fermentation of sugars in the metabolism of the *Lactobacillus* cited. Moreover analyzes were done conducted on the best treatment as ash content according to AOAC regulations proteins, total solids, total carbohydrates, energy, as well as microbiological analysis. Both viscosity, which is influenced by the use of enzymes and the sweet potato concentration, total solids and humidity were measured at the end of the fermentation process. The sensory characteristics were evaluated through five variables and the results ranged from 1-3 (on hedonic scale of 1-5) from moderate until very nice taste.

The research work gives information on bioprocess for preparing the sweet potato lacto-juice, using the best enzyme (Fungamyl) as the most active when used –sweet potato as substrate and *Lactobacillus plantarum* for improve the fermentation process, both sensorial and microbiological features were satisfactory. So it is expected to offer a new product with functional characteristics to meet the needs of the domestic market and accessible to all families.

Keywords: enzymes, lactic acid fermentation, probiotics, tubers

INTRODUCCIÓN

El camote es un tubérculo con elevado contenido de almidón y contienen carotenos que pueden ser usados como

pigmentos naturales. En la actualidad se cultiva en 82 países.

En el mundo el rendimiento del cultivo es de 14,75 ton/ha, se considera como el séptimo cultivo alimenticio más importante del mundo en términos de producción. China es el primer productor, con más de 121 millones de toneladas (el 92% de la producción mundial) y un rendimiento de 17 ton/ha, en América Latina, se destacan en su producción Brasil, Argentina, Perú, Haití y Cuba (FAO, 2005) citado por (Sánchez y Combariza, 2006).

Actualmente, los productos probióticos más comunes generalmente se catalogan como leche fermentada y yogurt. Sin embargo, la intolerancia a la lactosa y contenido de colesterol son dos inconvenientes relacionados con su consumo. Se ha sugerido que un jugo de fruta podría servir como medio de cultivo de probióticos (Yoon et. al, 2007). Las frutas y vegetales, alimentos saludables, son ricos en antioxidantes, vitaminas, fibras dietéticas y minerales. Además, no contienen ningún alérgeno lácteo que pudiera prevenir su uso por cierto segmento de la población (Luckow y Delahunty, 2004).

Lactobacillus plantarum es una bacteria láctica heterofermentativa facultativa, metabólicamente muy flexible y versátil que se encuentra en un gran rango de ambientes, incluyendo los productos lácteos y cárnicos-fermentados, el tracto gastrointestinal humano (Kleerebezem et. al, 2003). Sin embargo, su nicho más habitual son los alimentos fermentados de origen vegetal.

Probiotic (2009), indica que *Lactobacillus casei* es una bacteria beneficiosa que se encuentra naturalmente en la boca e intestinos del ser humano. Se produce ácido láctico que ayuda a reducir los niveles de pH en el sistema digestivo e impide el crecimiento de bacterias dañinas. *Lactobacillus casei* se pueden encontrar en “productos lácteos crudos o fermentados y los productos vegetales frescos o fermentados”.

Marín et. al, (2009), citan que *Lactobacillus plantarum* y *casei* se caracterizan por ser microorganismos auxótrofos, al no ser capaces de sintetizar todos los factores de crecimiento, como bases nitrogenadas, aminoácidos y vitaminas del complejo B, requiriendo un sustrato ácido; hacen parte de la microbiota de la leche, la carne, los vegetales, las frutas, los vinos, las mucosas intestinales y vaginales, de donde toman sus requerimientos nutricionales; son genéticamente estables, capaces de alcanzar el intestino humano y multiplicarse sin producir daños al huésped. Éstos, para considerarse probióticos, deben ser viables en el alimento en concentraciones de 10^6 - 10^{11} (ufc/ml), durante el tiempo de vida útil.

La fermentación del ácido láctico aumenta la solubilidad de proteínas y la disponibilidad de aminoácidos limitantes, en algunos llega al 50%. El impacto nutricional de los alimentos fermentados en las enfermedades nutricionales puede ser directo o indirecto. Fermentaciones de alimentos que aumentan el contenido de proteína o mejorar el equilibrio de aminoácidos esenciales, tendrá un efecto curativo directo. Del mismo modo fermentaciones que aumentan el contenido o la disponibilidad de vitaminas como la tiamina, la ribo-

flavina, la niacina o el ác. fólico puede tener profundos efectos directos sobre la salud de sus consumidores (Steinkraus, 1997).

El objetivo de este trabajo es emplear probióticos (*Lactobacillus plantarum* & *Lactobacillus casei*) y enzimas para la fermentación ácido-láctica de Camote (*Ipomoea batatas* L.).

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

El camote variedad (*Ipomoea batatas* L.) se adquirió en el Mercado Modelo de la ciudad de Ambato, los cuales fueron seleccionados antes del proceso. Se utilizó los edulcorantes Stevia y Fructosa. Las enzimas amilasas y pectinasas utilizados se adquirieron de la empresa Quifatex S.A – de Quito. Las bacterias *Lactobacillus plantarum* fueron suministrados por la Universidad de California en Irvine USA y *Lactobacillus casei* se adquirió en la Farmacia Sana de la ciudad Ambato, de la provincia de Tungurahua.

Diseño Experimental

Se utilizó un diseño al azar en arreglo factorial A•B•C de 12 tratamientos, con tres replicas.

Factor A: concentración de camote.

$$a_1 = 1:5 \text{ y } a_2 = 1:10.$$

Factor B: Tipo de edulcorante.

$$b_1 = \text{Fructosa y } b_2 = \text{Stevia.}$$

Factor C: Especie de microorganismo.

$$c_0 = \text{Lb. Plantarum. } c_1 = \text{Lb. casei. y } c_2 = \text{Lb. plantarum + Lb. casei}$$

Preparación de cultivo iniciador

Para preparación de cultivo iniciador se utilizó uva de buena calidad.

Extracción de jugo

Se distribuyó las concentraciones en los envases de vidrio con el camote rallado y agua esterilizada, se cocinó a 92°C durante 15 min. Posteriormente se realizó ensayos con las enzimas pectinasas y α -amilasas con dos tipos de concentración (0,025% y 0,5%) que se añadieron a cada botella para facilitar desdoblamiento del almidón. Las botellas se incubaron en una cámara de laboratorio (28 $\pm$ 2 °C) durante 24 horas (tres repeticiones por tratamiento).

Fermentación

El jugo cocido se utilizó para la fermentación, se inocularon con 3 ml; 1×10^7 ufc/ml de *Lb. plantarum* (cultivo iniciador) y *Lb. casei* (cultivo iniciador). Se incubaron durante 48 horas.

Análisis en Lacto-Jugo

Se realizaron análisis a los jugos de pH, sólidos totales, acidez, viscosidad. El pH se midió con un medidor de pH (Extech pH100 ExStik Waterproof), la acidez titulable (Villa, 2011) se realizó por titulación, los °Brix se utilizó un Bríxómetro (Atago 0-32 %), estos análisis se realizaron cada dos horas durante el proceso de fermentación es decir; 0, 2, 4, 6, 12, 18, 24, 36, 38, 40, 42, 44, 46 y 48 horas. La viscosidad (Alvarado, 1996) se evaluó con el viscosímetro de tubo capilar tipo Ostwald al finalizar el proceso de fermentación.

Recuento microbiano

Se realizó cinética de crecimiento tanto por pérdida de peso del sustrato y conteo de bacterias del mejor tratamiento, con la utilización de una incubadora que controla la agitación y temperatura (New Brunswick Scientific), el recuento de bacterias coliformes técnica (INEN 1529-8), mohos y levaduras, vida útil del mejor tratamiento técnica (INEN 1529), para el recuento de bacterias se utilizó agar MRS (Man, Rogosa and Sharpe).

Evaluación sensorial

Los atributos sensoriales: sabor, color, olor, acidez, aceptabilidad, fueron evaluados por 26 panelistas semientrenados las cataciones se las realizó por duplicado, el lacto-jugo se sirvió en vasos de polipropileno transparente que habían sido marcado con números de 3 dígitos al azar. Se dieron indicaciones generales para evitar cualquier confusión. Los métodos estadísticos utilizados para la evaluación de los resultados analíticos fueron, el análisis multivariante y el análisis de correlación. Los datos fueron analizados por el programa estadístico InfoStat y Statgraphics Centurion.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los últimos años el desarrollo y mejoramiento de tecnología de obtención y utilización de cultivos microbianos en alimentos, ha provocado un incremento en la seguridad alimentaria, donde se promueve el desarrollo de nuevos alimentos funcionales para mejorar la calidad de vida.

El camote es rico en almidón, azúcares y fenoles, pueden servir como buen sustrato para los lacto-jugos. El lacto-jugo o jugo de camote con probióticos, es un nuevo producto beneficioso bajo en calorías 13 Kcal, con carbohidratos totales 3,15 %, con proteína 0,01 % y cenizas 0,11 %, sólidos totales 3,27 %; a diferencia de un jugo sin bacterias, calorías 9 Kcal, con carbohidratos totales 2,33 %, con proteína 0,01 % y cenizas 0,08 %, sólidos totales 2,43 % (LACONAL).

Tratamiento enzimático de lacto-jugo de camote

El International Starch Institute en Dinamarca (2001), afirma: el gránulo de almidón de camote tiene un diámetro que va desde 4 a 40 micrones, siendo el promedio 19, con contenido de amilosa del 19-25%. En la Fig. 1 se indica el incremento de °Brix cuando se aplicó las enzimas α -amilasas y pectinasas, por 24 horas.

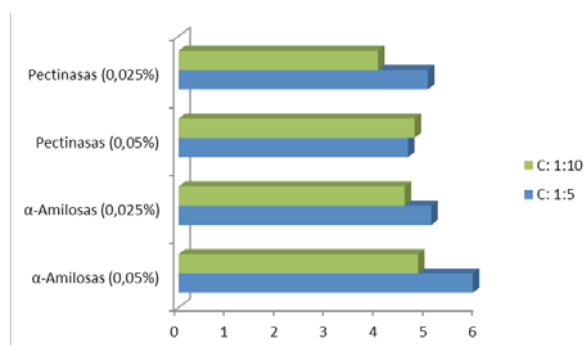


Figura 1. Efecto de la concentración de enzimas pectinasas y amilasas, sobre el °Brix de los jugos.

Al aplicar una prueba múltiple de rangos al 95% de confianza, se determinó que con las enzimas α -amilasas, se tiene mayor concentración en °Brix al 0,05 %.

La utilización de enzimas termoestables presenta muchas ventajas, entre ellas: se eliminan riesgos de contaminación por microorganismos y disminuyen la viscosidad del medio ya que actúan a altas temperaturas. Sin embargo, las α -amilasas fúngicas son más eficaces cuando no es necesario gelatinizar previamente el almidón además de que ofrecen la posibilidad de trabajar a bajas temperaturas (Godfey y Reincheit, 1983).

Análisis físicos y químicos

Los cambios en el lacto-jugo se midieron durante el proceso de fermentación cada dos horas, hubo disminución de °Brix al mismo tiempo de pH, e incremento de acidez. El pH es un factor crítico en el desarrollo de sabor y aroma de los productos fermentados (McFeeter, 2004).

Tabla 1. Promedios a las 48 horas de fermentación; valores de pH, acidez, °Brix y sólidos totales.

D2 E	dulc.	Microorganismos	pH A	cidez	°Brix	Sólidos Totales
1-5	Fruct.	<i>Lb. plantarum</i>	3,46 1	,17	3,07 4	,73
1-5	Fruct.	<i>Lb. casei</i>	4,72 0	,87	3,20 4	,46
1-5	Fruct.	<i>Lb.plantarum</i> ⁺ <i>casei</i>	4,22 1	,08	3,53 4	,54
1-5	Stevia	<i>Lb. plantarum</i>	3,57 1	,23	2,87 4	,46
1-5	Stevia	<i>Lb. casei</i>	4,74 0	,90	3,60 3	,51
1-5	Stevia	<i>Lb.plantarum</i> ⁺ <i>casei</i>	4,69 0	,99	2,60 2	,64
1-10 F	ruct.	<i>Lb. plantarum</i>	3,25 1	,17	1,47 3	,77
1-10 F	ruct.	<i>Lb. casei</i>	4,66 0	,99	1,47 2	,72
1-10 F	ruct.	<i>Lb.plantarum</i> ⁺ <i>casei</i>	4,22 1	,08	1,20 2	,60
1-10 S	tevia	<i>Lb. plantarum</i>	3,13 1	,32	0,93 2	,71
1-10 S	tevia	<i>Lb. casei</i>	4,64 0	,90	1,20 2	,46
1-10 S	tevia	<i>Lb.plantarum</i> ⁺ <i>casei</i>	4,08 1	,08	1,53 2	,95

El pH óptimo de jugos de vegetales fermentados, como la col y zanahoria se reportan entre 3,8 a 4,5 según (Adams y Nicolaides, 1997). En la Tabla 1. se muestra los promedios a las 48 horas de fermentación de *Lb. plantarum*, con sólidos totales (4,73), ácido láctico (1,23 a 1,32 g/l) y de pH (3,13 a 3,57) a diferencia de la utilización de *Lb. casei* con consumo de sólidos totales (2,46), ácido láctico (0,87 a 0,99 g/l) y disminución de pH (4,74), consecuentemente al utilizar *Lb. casei* y *Lb. plantarum* los sólidos totales (3,17), ácido láctico (0,99 a 1,08 g/l) y de pH (4,08-4,22)

Los sólidos totales en el producto durante la fermentación

tación disminuyeron, debido a su bioconversión para incrementar ácido láctico y a la utilización durante el crecimiento y metabolismo de los *Lactobacillus*, siendo reportado el mismo comportamiento por (Verna, 2010). En la Tabla 2. se observa cómo influyen las enzimas en la viscosidad a diferentes temperaturas.

Según Espitia (2009), a menudo se nombra las enzimas α -amilasas como enzimas licuantes, debido a su rápida acción para disminuir la viscosidad de las soluciones de almidón, reduce la viscosidad pues rompe los enlaces alfa 1-4 al azar y forma cadenas de glucosa de distintos tamaños. Los altos valores de los coeficientes de correlación establecen que en todos los gráficos hay armonía de sus valores ($>0,90$).

En las primeras 24 horas las bacterias de *Lb. plantarum* consumieron alrededor del 1% y a las 48 horas donde se finaliza la fase exponencial queda solo el 3% de azúcares totales. Sin embargo una vez agotada la fuente de energética, es capaz de aprovechar otros nutrientes como proteínas y grasas en el medio (Samaniego et. al, 2000), por lo que se recomienda que la fermentación no sea prolongada más allá de las 48 horas en donde se ha agotado prácticamente todo el sustrato.

Análisis Sensorial

En el ensayo se aplicó dos replicas, de las cataciones a los estudiantes semi-entrenados que cursan los últimos semestres de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, de la Universidad Técnica de Ambato a quienes se les solicito evaluar: color; siendo, 1 muy claro a 5 muy oscuro. Olor; 1 bastante perceptible a 5 nada perceptible. Sabor; 1 agrada mucho a 5 desagrada mucho. Acidez; 1 acidez apenas perceptible a 5 extremadamente ácido y aceptabilidad; donde 1 bastante aceptable a 5 nada aceptable, nótese los promedios de las cataciones en la Tabla 3. Además de un control, éste sin ningún tipo de aditivo, ni *Lactobacillus*.

Tabla 2. Valores promedio de viscosidad (Pa.s), con edulcorantes (Stevia (S), Fructosa (F)); 48 horas de fermentación, diferentes temperaturas en lacto-jugo de camote.

D2 E	dul	Microorg.	5°C (Pa.s)	10°C (Pa.s)	20°C (Pa.s)	30°C (Pa.s)
1-5	F. L	b. plantarum 2	,34E-03	1,76E-03 1	,25E-03	9,85E-04
1-5	F. L	b. casei 1	,71E-03	1,49E-03 1	,15E-03	8,93E-04
1-5	F.	Lb. plantarum Lb. casei	2,07E-03 1	,74E-03	1,29E-03 1	,01E-03
1-5	S. L	b. plantarum 1	,96E-03	1,62E-03 1	,22E-03	9,86E-04
1-5	S. L	b. casei 1	,97E-03	1,60E-03 1	,27E-03	9,59E-04
1-5	S.	Lb. plantarum Lb. casei	1,75E-03 1	,46E-03	1,03E-03 8	,09E-04
1-10 F	.	Lb. plantarum 1	,89E-03	1,53E-03 1	,22E-03	9,21E-04
1-10 F	.	Lb. casei	1,67E-03 1	,37E-03	1,12E-03 8	,88E-04
1-10 F	.	Lb. plantarum Lb. casei	1,80E-03 1	,34E-03	1,11E-03 1	,10E-03
1-10 S	.	Lb. plantarum 1	,29E-03	1,21E-03 1	,00E-03	7,98E-04
1-10 S	.	Lb. casei	1,86E-03 1	,44E-03	1,15E-03 9	,17E-04
1-10 S	.	Lb. plantarum Lb. casei	1,71E-03 1	,44E-03	1,11E-03 9	,05E-04

Análisis Estadístico

Los resultados mostraron diferencias significativas ($\alpha=0,05$) entre los tratamientos de los ensayos físicos y bioquímicos, el tratamiento que mostro cambios significativamente es con la cepa de *Lb. plantarum*, a una concentración 1-10 y con edulcorante stevia, consumo de sustrato (2,71 %) generación de ácido láctico 1,32 g/l y disminución de pH (3,13).

Fumi et. al, (2010) indicaron que *Lb. plantarum* es una bacteria heterofermentativa, ésta posee una gran capacidad biocinética y una perfecta adaptación de medios abundantes en nutrientes y fuentes energéticas debido al tamaño de su genoma, el cual es 50% más grande que la mayoría de bacterias ácido lácticas presentando una gran capacidad metabólica (Vázquez, 2008), razón por la cual puede tener rendimientos mayores.

En la evaluación sensorial se indicó que el tratamiento con concentración 1-10, edulcorante Stevia y *Lb. plantarum*, por parte de los catadores fue asignado en los atributos sabor, aceptabilidad, acidez, como: agrada mucho, bastante aceptable y débilmente ácido respectivamente.

Tabla 3. Respuestas de evaluación sensorial, de los diferentes tratamientos. C: Color; O: Olor; S: Sabor; A: Acidez; Ac: Aceptabilidad.

D2	Edulcorante	Microorganismo	C	O	S	A	Ac
1-5	Fructosa	<i>Lb. plantarum</i>	2	1	3	3	4
1-5	Fructosa	<i>Lb. casei</i>	3	2	3	3	4
1-5	Fructosa	<i>Lb. plantarum</i>					
1-5	Fructosa	<i>Lb. casei</i>	3	2	4	3	3
1-5	Stevia	<i>Lb. plantarum</i>	2	2	2	3	2
1-5	Stevia	<i>Lb. casei</i>	3	3	3	3	4
1-5	Stevia	<i>Lb. plantarum</i>					
1-5	Stevia	<i>Lb. casei</i>	3	3	3	3	2
1-10	Fructosa	<i>Lb. plantarum</i>	4	3	3	3	3
1-10	Fructosa	<i>Lb. casei</i>	4	3	3	3	3
1-10	Fructosa	<i>Lb. plantarum</i>					
1-10	Fructosa	<i>Lb. casei</i>	3	4	3	4	3
1-10	Stevia	<i>Lb. plantarum</i>	3	2	2	3	3
1-10	Stevia	<i>Lb. casei</i>	3	3	3	3	4
1-10	Stevia	<i>Lb. plantarum</i>					
1-10	Stevia	<i>Lb. casei</i>	2	3	3	3	4
Control			5	3	4	1	4

Al mejor tratamiento se aplicaron los ensayos de análisis microbiológico, tiempo de vida útil, análisis proximal, cinético de crecimiento de los microorganismos iniciadores.

Calidad microbiológica

En la Fig. 2 y Fig. 3, se muestra el crecimiento de *Lb. plantarum* tanto por conteo de colonias ufc/ml y por peso de sustrato g/ml. El crecimiento de microorganismos iniciadores presenta dos fases. Mismos resultados reportados en Agudelo et. al, (2010), una primera fase que va desde 0 hasta 24 horas de fermentación correspondiente a la fase exponencial en donde las células se reproducen sin limitación de sustancias nutritivas a velocidad máxima (Flores, 2000), seguida de una fase estacionaria hasta las 48 horas donde no se diferencia un aumento significativo en la densidad celular.

Para la elaboración de este lacto-jugo fue importante alcanzar acidez y pH deseados por el proceso de fermentación, cabe recalcar este producto no contiene conservante y no fue pasteurizado.

Para el cálculo de vida útil, se realizó el recuento de mohos y levaduras a 5°C, 20°C, 30°C y mediciones de acidez a estas temperaturas, dichos análisis sirvieron para llegar a los niveles permitidos en la Norma INEN: 2395.

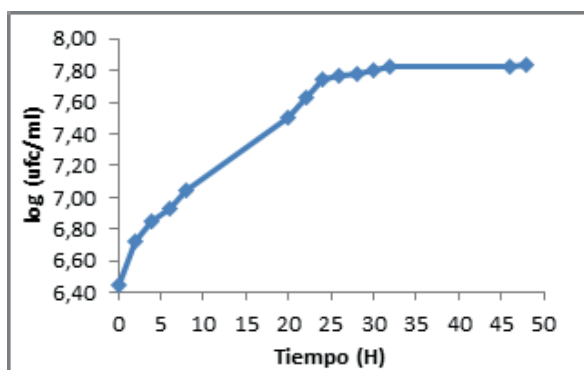


Figura 2. Crecimiento de bacterias ácido lácticas *Lactobacillus plantarum*; conteo de colonias (ufc/ml) vs tiempo (h).

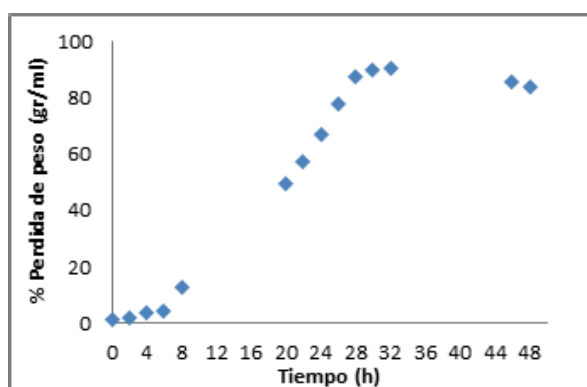


Figura 3. Crecimiento de microorganismos. *Lactobacillus plantarum*; pérdida de peso del sustrato (g/ml) vs tiempo (h)

Al aplicar las regresiones lineales indicadas en la Fig. 4, con una correlación de 0,980, se estima que el tiempo de vida útil a 5 °C es de 17 días, la acidez (g de ác. láctico/100 g) se controló cumpliendo la norma MERCOSUR 47/97, donde a los 15 días se encuentra dentro del rango establecido por dicha norma. Ésta temperatura es la adecuada para la conservación del lacto-jugo.

A 20°C una correlación de 0,9749 el tiempo de vida útil estimado fue de 7 días, en cambio con las mediciones de acidez (g de ác. láctico/100 g) para cumplir con los requisitos de la norma la vida útil se resume en 5 días.

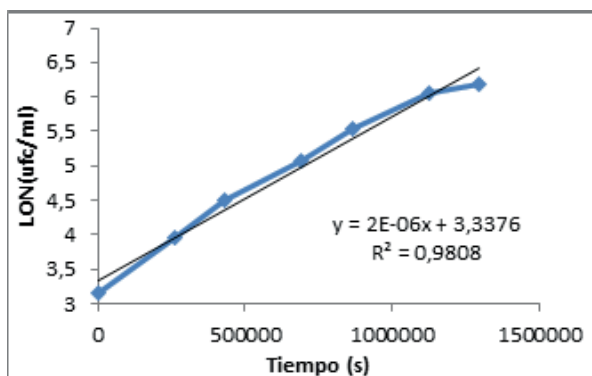


Figura 4. Tiempo de vida útil: Recuento de mohos y levaduras presentes en el mejor tratamiento a 5°C.

A 30°C con una correlación de 1 se estima que el tiempo de vida útil tanto en acidez (g de ác. láctico/100 g) como en recuento microbiano es menor a tres días. Acorde con las mediciones de vida útil, se realizó conteo de *Lactobacillus plantarum* donde a los 15 días se mantenía con $1,15 \times 10^7$ ufc/ml, cumpliendo así con lo mencionado por Colla (2004), indicando que los niveles mínimos de bacterias probióticas están presentes en estos productos a una concentración de 10^6 ufc/g.

CONCLUSIONES

Se emplearon microorganismos probióticos, *Lactobacillus plantarum* y *casei*, en la elaboración de un jugo a partir de camote, dichos microorganismos influyeron significativamente tanto en las propiedades físicas como en las bioquímicas e microbiológicas, al 95% de confianza se determinó el mejor tratamiento: concentración 1=10 con stevia y *Lactobacillus plantarum*, con un pH final de 3,13, acidez 1,3 (g de ác. láctico/10g) y 1,00 en °Brix, además se comprobó el efecto inhibidor que tiene debido a la ausencia de coliformes fecales (<10) y *Staphylococcus aureus* (<10) en los lacto-jugos.

REFERENCIAS

- Alvarado, J. de D. 1996. Principios de Ingeniería Aplicados a Alimentos. OEA-PRDCT. Quito, Ecuador. Radio Comunicaciones. División de Artes Gráficas pp. 183-200
- Adams, M.R.; Nicolaidis, L. 1997. Review of the sensitivity of different food borne pathogens to fermentation. Food Control 8: 227–239.
- Agudelo, C., Ortega, R., Hoyos, J. L. 2010. Determination of kinetic parameters of two lactic inoculums: *Lactobacillus plantarum* a6 and lactic acid bacteria of yogurt. Facultad de Ciencias Agropecuarias Vol 8 No. 2.
- Samaniego, F.; Castillo, L. M. S.; Maryla. 2000. *Lactobacillus* spp.: Importantes promotores de actividad probiótica, antimicrobiana y bioconservadora. Universitaria del Ministerio de Educación Superior de la República de Cuba.
- Collado, M. 2004. “Caracterización de cepas del género *Bifidobacterium* con carácter probiótico”. Consultado en: <http://www.upv.es> (12-03-2011)
- Espitia, L. 2009. Determinación de la concentración de alfa y beta amilasas comerciales en la producción de etanol a partir de almidón de cebada empleando *Saccharomyces cerevisiae*. Consultado en: www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis206.pdf (08/08/2012)
- Fumi M.D., Sibylle Krieger-Weber, Magali Délérís Bou, J.M. Heras, M. du Toit. 2010. Una nueva generación de bacterias malolácticas para vinos con pH elevado. Enoviticultura, ISSN 2013-6099, N°. 6, págs. 34-38

- Flores, N. 2000. Elaboración de cultivos microbianos a partir de pasta de coco y su utilización para borregos en engorda. Tesis de grado para optar por el título Maestra en Ciencias pecuarias. Universidad de Colima. Postgrado interinstitucional de ciencias pecuarias.
- Kleerebezem, M. y Boekhorst, J. 2003. Complete genome sequence of *Lactobacillus plantarum* WCFS1. PNAS 100, 1990-1995
- Luckow, T., Delahunty, C., 2004. Which juice is healthier. A consumer study of probiotic non-dairy juice drinks. Food Quality and Preference.
- Marin, A. Z.; Cortés, R. M.; Montoya, O. C. 2009. Evaluación de la viabilidad de crecimiento de la cepa nativa *Lactobacillus plantarum* LPBM10 y la cepa comercial *Lactobacillus casei* ATCC 393 en pulpa de uchuva y en solución isotónica de glucosa. Consultado: redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve.. (01/08/12)
- McFeeters, R.F. 2004. Fermentation microorganisms and flavor changes in fermented food. J Food Sci 69(1): 35–37.
- Probiotic. 2009. *Lactobacillus casei*. Consultado en: <http://www.probiotic.org/lactobacillus-casei.htm> (20/03/2012)
- Sánchez, D.; Combariza, A. 2006. Estudio De La Obtención De Un Alimento A Partir De Cultivos Biofortificados. Tesis de grado para optar al título de Ingeniero Químico. Santiago de Cali- Colombia
- Steinkraus, K. H. 1997. Classification of fermented foods: worldwide review of household fermentation techniques. Food Control., 8: 311–317.
- Vázquez, A.; 2008 Viabilidad y propiedades fisicoquímicas de leche fermentada probiótica. Tesis de grado para optar por el título Maestra en Ciencia de Alimentos. Escuela de Ingeniería y Ciencias. Departamento de Ingeniería Química y Alimentos. Puebla, México.
- Verna, E. 2010. Use of probiotics in gastrointestinal disorders: what to recommend?. Therap Adv Gastroenterol; 3(5): 307–319.
- Yoon, Y.; Woodams, E.; Yong, H. 2007. Jugo de Tomate Probiótico con Bacterias Ácido Lácticas. Departamento de Nutrición y Alimentos, Yeungman University, Kyungsan. Departamento de Ciencias Y Tecnología de Alimentos, Cornell University, Geneva, NY. República de Corea, 712-749.

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE CUATRO MÉTODOS DE INOCULACIÓN DE DOS CEPAS DE *Azospirillum* spp., EN EL CULTIVO DE MAÍZ (*Zea mays* L.), VARIEDADES INIAP 122 Y 102, EN LAS PROVINCIAS DE IMBABURA Y PICHINCHA

“EVALUATION OF THE EFFECT OF FOUR INOCULATION METHODS OF TWO *Azospirillum* spp. STRAINS IN THE CORN CROP (*Zea mays*, L.), INIAP 122 and 102 VARIETIES, AT THE IMBABURA AND PICHINCHA PROVINCES”

¹Gabriela Ortiz y ²Ramiro Velasteguí

¹Tesista del Departamento de Maíz, Estación Experimental Santa Catalina, Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Panamericana Sur Km 1, Quito - Ecuador, email: gabyortiz_20@hotmail.com

²Profesor de la Carrera de Ingeniería Bioquímica Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Universidad Técnica de Ambato, Campus Huachi: Av. Los Chasquis y Río Payamino. Ambato – Ecuador.

RESUMEN

Con el propósito de mejorar la productividad del maíz al promover el crecimiento vegetal y fijar el nitrógeno atmosférico se inoculó la bacteria *Azospirillum* spp., pero, para que la bacteria ejerza su actividad metabólica eficientemente sobre las plantas, es necesario una buena interacción planta – microorganismo, que se pudo lograr con la aplicación de métodos de inoculación apropiados, los que fueron evaluados en las variedades INIAP 102 en Pichincha e INIAP 122 en Imbabura. Para este estudio se establecieron dos factores formados por las cepas de *Azospirillum* spp. y los métodos de inoculación de la bacteria, y se evaluaron doce tratamientos en un Diseño de Parcela Dividida (DPD). Las variables microbiológicas analizadas en los suelos fueron población de actinomicetes, hongos, bacterias solubilizadoras de fósforo, bacterias degradadoras de celulosa y *Azospirillum* spp. Las variables morfológicas analizadas en el maíz fueron emergencia de planta, altura de planta, altura de inserción de mazorca en planta, daño a la mazorca por *Heliothis zea*, daño a la mazorca por *Fusarium moniliforme*, longitud de mazorca, diámetro de mazorca, nitrógeno total en suelo, nitrógeno total en planta, rendimiento en choclo; además se realizó el análisis económico de Presupuesto Parcial y Tasa de Retorno Marginal. En Amagüa, las variables que presentaron significación estadística fueron altura de planta, altura de inserción de mazorca en planta, nitrógeno total en suelo y población de hongos. En Quinchuquí, las variables con diferencia significativa fueron población de bacterias degradadoras de celulosa, actinomicetes, hongos y *Azospirillum* spp., y altura de inserción de mazorca en planta. De esta manera, se concluye que el mejor método de inoculación fue líquido a la semilla, que conjuntamente con las técnicas agronómicas y la mínima fertilización inorgánica, facilitaron el establecimiento de la bacteria en la rizósfera, mejorando la interacción planta – microorganismo y la síntesis de hormonas vegetales, permitiendo el incremento de los órganos vegetativos y el rendimiento de las variedades de maíz INIAP 102 en Amagüa e INIAP 122 en Quinchuquí, además de la fijación biológica del nitrógeno atmosférico. El método líquido a la semilla permitió a *Azospirillum* spp. de Bolívar ser más eficiente, seguido del método de inoculación sólido a la semilla; no obstante este método no resultó ser el dominante para *Azospirillum* spp. de Chimborazo, que actuó mejor con la aplicación líquida al suelo. El método líquido a la semilla permitió a los pequeños productores de maíz recuperar el capital invertido en la producción y obtener ganancia.

Palabras clave: Biofertilizante, bacterias promotoras del crecimiento vegetal, cepas de *Azospirillum* spp., métodos de inoculación, hormonas de crecimiento vegetal, fijación biológica de nitrógeno, emergencia de planta, altura de planta, altura de inserción de mazorca en planta, daño a la mazorca por plagas y hongos, diámetro y longitud de mazorca, porcentaje de nitrógeno en suelo y planta, rendimiento, Presupuesto Parcial, Tasa de Retorno Marginal.

SUMMARY

In order to improve corn productivity through the plant growth in fixing nitrogen it has been inoculated the bacteria *Azospirillum* spp., but in order to obtain the effective metabolic activity an appropriate interaction plant-microorganism is necessary which had to be done applying some inoculating methods on the INIAP variety 102 in Pichincha province and INIAP 122 in Imbabura province. Two experimental factors were used: the strains of *Azospirillum* spp. and the bacteria inoculation methods. Twelve treatments were done using a split-plot design (SPD). Microbial variables in soil such as actinomycetes, fungi and phosphorus solubilizers bacteria were analyzed as well as cellulolytic bacteria and *Azospirillum* spp. The analyzed variables in corn were plant emergency, plant height, corn cob insertion height in the plant, *Heliothis zea* and *Fusarium moniliforme* damages in cobs, cob length, cob diameter, total nitrogen in soil, total nitrogen in plant and cob yield. Moreover, an economic analysis of Partial Budgeting and Marginal Rate of Return was also accomplished.

In Amaguaña (Pichincha) plant height, corn cob insertion height in the plant, total nitrogen in soil and fungi population showed statistical differences. In Quinchuquí (Imbabura) corn cob insertion height in the plant as well as actinomycetes, fungi, cellulolytic bacteria and *Azospirillum* spp. were statistically different. Therefore it is concluded that the best method of inoculation was the liquid inoculation of the seeds which in addition with agronomic techniques and the minimal inorganic fertilization were appropriate to establish the bacteria in the rhizosphere, improving the interaction plant-microorganism and the plant hormones allowing the growth of plant organs and improving the yield of the variety INIAP 102 in Amaguaña and INIAP 122 in Quinchuquí as well as the atmospheric fixation of nitrogen. The liquid inoculation to seeds allowed at *Azospirillum* spp. from Bolívar be more efficient than the dry method of inoculation. However, the liquid inoculation to seeds was not always the best because *Azospirillum* spp. from Chimborazo responded better with liquid inoculation to soil. Economically, the liquid inoculation to seeds will allow corn farmers to get their investments back and to earn more.

Keywords: Biofertilizer, plant growth bacteria, *Azospirillum* spp. strains, inoculation methods, plant growth hormones, biological fixation of nitrogen, plant emergency, plant height, corn cob insertion height in the plant, damage in cobs by pests and diseases, cob length, cob diameter, total nitrogen in soil, total nitrogen in plant and cob yield, Partial Budgeting and Marginal Rate of Return.

INTRODUCCIÓN.

El maíz es el segundo cultivo del mundo de mayor importancia por su producción, después del trigo y es el primer cereal en rendimiento de grano por hectárea; es de gran importancia económica a nivel mundial ya sea como alimento humano, para el ganado o como fuente de un gran número de productos industriales. Para la obtención de un maíz de calidad, la fertilización química nitrogenada es una práctica indispensable, sin embargo, un manejo inadecuado representa un riesgo ecológico. Por esta razón, para mejorar el rendimiento y producción del maíz actualmente se usan inoculantes microbianos o biofertilizantes, a base de bacterias reconocidas por su capacidad de promover el desarrollo de los cultivos y fijar el nitrógeno atmosférico.

Los biofertilizantes han sido aplicados en diferentes suelos, en diversidad de climas sean templados y tropicales, a través de diversos métodos de inoculación que aseguran una introducción de bacterias efectivas para que cumplan con su rol en las plantas, pero, a pesar de los experimentos exitosos, tanto en campo, como en invernadero, el desarrollo comercial de inoculantes a base de *Azospirillum* spp. se ha retrasado, debido a que la principal dificultad ha sido la inconsistencia de los resultados en campo obtenidos con la inoculación de bacterias de este género. Por esta razón se implementaron ensayos en los sectores de

Quinchuquí en Imbabura y Amaguaña en Pichincha donde se inoculó cepas *Azospirillum* spp., con el objetivo de incrementar el número de microorganismos en el suelo y acelerar los procesos microbianos, para aumentar las cantidades de nutrientes que pueden ser asimilados por las plantas, proveer de nitrógeno a la planta, sobre todo, promover el crecimiento de las variedades mejoradas de maíz del INIAP, que actualmente, están más al alcance de los pequeños productores y consumidores.

CONSIDERACIONES TEÓRICAS.

Azospirillum

Es una de las rizobacterias más estudiadas, es aerobia, vive libremente en el suelo asociada a las raíces de la plantas.

Muestran una amplia distribución geográfica alrededor del mundo, aún cuando son más abundantes en las regiones tropicales, también se les encuentra en las regiones templadas, frías y desérticas. Se encuentra en el suelo de la superficie de la raíz (rizoplasma), en el suelo alrededor de las raíces (rizósfera) o asociada a las raíces de una gran variedad de cultivos como maíz, trigo, arroz, sorgo, avena, pastos forrajeros, henequén, plantas cactáceas; donde forman pequeños agregados en las áreas de elongación celular, bases de los pelos radicales, cofia, pelos radicales o dentro del mucigel y

colonizan estos sitios en dos etapas que son de adhesión y anclaje.

Uno de los principales mecanismos propuestos en la actualidad para explicar la promoción del crecimiento vegetal en plantas inoculadas con *Azospirillum* spp., se relaciona con su capacidad de producir y metabolizar compuestos reguladores del crecimiento vegetal o hormonas vegetales. Estas son auxinas, giberelinas, citoquininas y en menor proporción ácido abscísico y etileno (Caballero, 1998).

Evaluación de las variedades de maíz INIAP.

La evaluación, consiste en describir las características morfológicas de las variedades que generalmente corresponden a variables cuantitativas influenciadas por el ambiente y la baja heredabilidad. La evaluación está encaminada a conocer a los individuos tal cual se comportan en la naturaleza y en sus reales dimensiones, ya sean anatómicas, morfológicas, fisiológicas o de cualquier índole, sin importar si estas características o el comportamiento son promisorios o deficitarios, pues un carácter deficitario para el fitomejorador puede ser promisorio para un fitopatólogo o viceversa; es decir, la evaluación será totalmente imparcial y estará siempre lista para ser utilizada por cualquier persona o institución que requiera seleccionar el material fitogenético con fines específicos (Nieto, et al., 1984).

Los órganos más importantes para una descripción morfológica son aquellos menos influenciados por el ambiente, tales como la flor y el fruto, siguiéndoles en orden órganos como las hojas, tronco, ramas, raíces y los tejidos celulares. Para la caracterización se toma en cuenta los descriptores cualitativos (color y textura del grano, color de la planta, etc.) y aquellos descriptores cuantitativos influenciados por el ambiente (altura de planta, número de hojas por planta, número de ramificaciones de la espiga, etc.) (Enríquez, 1991).

Descriptores.

Según IBPGR (1991), como su palabra lo indica, los descriptores describen o califican las características de las variedades de maíz con un valor numérico, una escala, un código o un adjetivo calificativo y manifiesta que el proceso de caracterización de germoplasma es un factor estratégico para la solución de los problemas actuales y futuros relacionados con la generación de nuevas alternativas dirigidas a la obtención de variedades vegetales mediante la utilización de métodos tradicionales o biotecnológicos.

Los descriptores varían de acuerdo con la especie y al criterio de quien ha de usarlos, así, los fitomejoradores tienden a usar descriptores de interés agronómico útiles para el mejoramiento y que generalmente son de naturaleza poligénica; los botánicos eligen caracteres morfológicos independientemente de su regu-

lación genética, mientras que los genetistas tratan de elegir caracteres cualitativos y monogénicos con poder discriminatorio. Hoy se tiende a seleccionar un número mínimo de descriptores universalmente aceptados que faciliten el intercambio de información y material. Existe el criterio, que mientras mayor sea el número de descriptores utilizados, mejor será la evaluación; sin embargo, se aconseja seleccionar en base a prioridad, el número de descriptores, considerando en primer lugar a los de mayor interés práctico (Nieto, et al., 1984).

MATERIALES Y MÉTODOS.

Materiales.

- Inoculantes líquidos de *Azospirillum* spp. de Bolívar y Chimborazo para el suelo y a la semilla.
- Inoculantes sólidos de *Azospirillum* spp. de Bolívar y Chimborazo para el suelo y a la semilla.
- Variedades de maíz INIAP 102 y 122.

Diseño experimental.

Para el análisis estadístico se utilizó un diseño de Parcela Dividida (DPD), con tres repeticiones. La característica que distingue a este diseño, es que existen dos unidades experimentales que difieren en tamaño y cada una tiene sus propias estructuras de diseño y tratamientos al azar. Los dos tipos de unidades experimentales fueron las parcelas formadas por las cuatro metodologías de inoculación de *Azospirillum* spp. y las subparcelas que están anidadas dentro de las parcelas principales, formadas por las cepas y sus repeticiones.

Unidad experimental y muestra.

En cada ensayo se colocó 36 parcelas, que fueron las unidades experimentales o tratamientos. Las variables morfológicas del maíz, se evaluaron en 10 plantas al azar de cada tratamiento, que constituyen la muestra.

Métodos.

Establecimiento de los ensayos en campo

1. Preparación del Terreno.

Se realizaron labores de arada, rastra y surcada para permitir que el terreno quede suelto y sea capaz de captar agua sin que se produzcan encharcamientos, también para facilitar la descomposición de residuos y que el terreno tenga las condiciones adecuadas para la siembra (Yáñez, 2007).

2. Siembra.

Considerando que la densidad de siembra del maíz, es de 25 a 30 Kg/ha de semilla, es decir, 50 000 plantas/ha, se depositó dos semillas por sitio de forma manual, a una profundidad de 5 cm, una distancia de 50

cm entre sitios y 80 cm entre surco (Yáñez, 2007). Las semillas no fueron desinfectadas debido a que *Azospirillum* spp. no sobrevive a la aplicación de insecticidas, acaricidas y fungicidas; y su actividad se reduce en presencia de estos (Bernal y Graham, 2001).

3. Aplicación de métodos de inoculación de *Azospirillum* spp.

Se realizó a la siembra, manualmente distribuyendo uniformemente el inoculante (Zvietcovich, 2004).

a. Líquida al suelo. - Se utilizó 2 ml de inoculante de *Azospirillum* spp. de Bolívar y 2 ml de inoculante de *Azospirillum* spp. de Chimborazo por cada 0,2 Kg de semilla INIAP 102 para Amaguaña e INIAP 122 para Quinchuquí, con una concentración de 1×10^9 UFC/ml (FAO, 2001; Nitragin, 2002). El inoculante se suspendió en 1lt de agua y se colocó aproximadamente 3 ml por sitio con la ayuda de un aspersor manual estéril antes de colocar las semillas (Nitragin, 2002; Ventimiglia y Carta, 2005).

b. Sólida al suelo.- Se utilizó 2 g de inoculante de *Azospirillum* spp. de Bolívar y 2 g de inoculante de *Azospirillum* spp. de Chimborazo en base turba por cada 0,2 Kg de semilla INIAP 102 para Amaguaña e INIAP 122 para Quinchuquí, con una concentración de 1×10^9 UFC/ml (Bernal, et al., 2002). Las turbas inoculadas se mezclaron con 1 Kg de suelo nativo y se colocó aproximadamente 3 g por sitio, con la ayuda de una chuchara estéril antes de la colocación de las semillas (Bernal, et al., 2002; Ventimiglia y Carta, 2005).

c. Líquida a la semilla.- Se utilizó 2 ml del inoculante de *Azospirillum* spp. de Bolívar y 2 ml de inoculante de *Azospirillum* spp. de Chimborazo por cada 0,2 Kg de semilla INIAP 102 para Amaguaña e INIAP 122 para Quinchuquí, con una concentración de 1×10^9 UFC/ml. Se dejó la semilla en el inoculante por un espacio de 10 minutos para permitir que se dé el proceso de adhesión y anclaje de la bacteria a las semillas. La inoculación se efectuó inmediatamente y en horas de la mañana, para evitar temperaturas altas que afecten la viabilidad de la bacteria (Canto, et al., 2004; Zvietcovich, 2004).

d. Sólida a la semilla.- Se preparó una solución de melaza al 40% y se colocó lo suficiente para la cantidad de semilla utilizada, hasta que todas presentaron un color cristalino (Molina, 2006). Se mezcló 2 g de inoculante de *Azospirillum* spp. de Bolívar y 2 g de inoculante de *Azospirillum* spp. de Chimborazo soportado en turba, por cada 0,2 Kg de semilla INIAP 102 en Amaguaña e INIAP 122 en Quinchuquí, con una concentración de 1×10^9 UFC/ml. El inoculante se mezcló bien con la semilla y se dejó bajo sombra por un espacio de 10 minutos hasta que las semillas

estuvieron sueltas. Se sembró inmediatamente (Molina, 2006; Zvietcovich, 2004).

e. Manejo de los testigos.- Para el manejo de los testigos se colocó 2 semillas de las variedades INIAP 122 y 102 en cada sitio en la localidad correspondiente, sin la adición de inoculante.

4. Fertilización.

Se utilizó el 50% de la fertilización inorgánica para 1 hectárea [ha] de maíz según recomendaciones del INIAP ($1\frac{1}{2}$ sacos de Urea/ ha y 1 saco de 18-46-0/ ha). Estos se colocaron, en suelo húmedo, hasta el estado fenológico V8 (período vegetativo temprano), donde el sistema de raíces nodales está bien distribuida en el suelo y en este estado es mayor la absorción de nitrógeno. La forma de aplicación fue al surco, a 10 cm de las plantas lateralmente y se tapó para evitar la volatilización del nitrógeno (Yáñez, 2007).

5. Labores culturales y Riego.

Se realizó el aporque después de 45 días de la siembra; que consistió en arrimar la tierra alrededor de la planta con el objeto darle sostén, aflojar el suelo y mantener la humedad de la tierra. La siembra del maíz se realizó dentro de la época por lo que se aprovecharon las lluvias en las etapas de crecimiento y floración de la planta, ya que de ésta depende la formación y llenado del grano (Yáñez, 2007).

6. Control de malezas y plagas.

Se realizó la deshierba manual a los 45 días después de la siembra, debido a que es una época de competencia por nutrientes del suelo y esto puede reducir hasta un 25% la producción del maíz. Para el control del gusano de la mariposa *Heliothis zea*, se utilizó aceite vegetal comestible, con la finalidad de preservar los recursos naturales y el medio ambiente, así como la salud de los productores. Se colocaron de 2 a 3 gotas de aceite en la punta de los estigmas (pelos del choclo), en dos aplicaciones, la primera cuando un 30% de las plantas presentaron floración femenina y la segunda luego de 8 días (Yáñez, 2007).

7. Cosecha.

La cosecha del maíz se realizó de forma manual, en estado de choclo, cuando el grano estuvo en estado lechoso (80% de humedad) (aSilva, et al., 2000).

Evaluación de variables microbiológicas y agromorfológicas.

1. Población inicial y final de microorganismos en muestra de suelo.

Se realizaron diluciones desde 1×10^1 a 1×10^{10} con las muestras de suelo tamizadas y se sembró 1 ml de cada dilución por el método de siembra profunda en los medios de cultivo: agar caseína (actinomicetes),

ramos callao (bacterias solubilizadoras de fósforo), extracto suelo (bacterias degradadoras de celulosa) y rosa de bengala (hongos). Los aislamientos de actinomicetes y hongos se incubaron a 37°C, mientras que las bacterias solubilizadoras de fósforo y degradadoras de celulosa a 26°C. El conteo poblacional de actinomicetes y bacterias solubilizadoras de fósforo se realizó en 2 días, el conteo de hongos en 7 días y las bacterias degradadoras de celulosa en 10 días. Los resultados se expresaron en Unidades Formadoras de Colonias [UFC/gss] (Frioni, 1999).

2. Población inicial y final de *Azospirillum* spp. en muestra de suelo.

Se sembró 0,3 ml de cada dilución en 6 ml de medio de cultivo semisólido NFB (Nitrogen Fixation Biological) y se sometieron a incubación durante 14 días a 30°C. Se determinó un número característico de 3 cifras con los tubos con crecimiento bacteriano positivo. Con este número se calculó el Número Más Probable de *Azospirillum* spp. en Unidades Formadoras de Colonias [UFC/gss], utilizando la tabla de Mc. Crady (Espinoza, 2004).

Las variables morfológicas del maíz, se evaluaron en 10 plantas al azar de cada tratamiento.

3. Emergencia.

Se dividió el número de plantas emergidas para el número de semillas sembradas y se multiplicó por cien. Los valores se registraron en porcentaje [%] (IBPGR, 1991).

4. Altura de la planta.

Se midió la altura de planta, desde la base de la planta hasta el punto donde la panoja empieza a ramificarse. Los valores se registraron en centímetros [cm] (IBPGR, 1991; Ritchie, et al., 2003).

5. Altura de inserción de la mazorca en la planta.

Se midió la altura de inserción de la mazorca en la planta, desde la base hasta el nudo de inserción de la mazorca superior. Los valores se registraron en centímetros [cm] (IBPGR, 1991; Ritchie, et al., 2003).

6. Daño a la mazorca por el gusano de la mazorca (*Heliothis zea*) y el hongo (*Fusarium moniliforme*)
Se calificó el daño en las mazorcas al momento de la cosecha en choclo. Para esto se utilizó la escala propuesta por el CIMMYT, 1986 y con las calificaciones de las mazorcas se realizó un promedio ponderado. Los resultados se expresaron en porcentaje [%].

$$\text{Promedio ponderado} = (x_1y_1 + x_2y_2 + \dots + x_{10}y_{10})/T$$

Donde:

X = Número de mazorcas en cada valor de la escala.

Y = Valor medio correspondiente a la escala.

T = Número total de mazorcas.

7. Diámetro de la mazorca.

Se midió el diámetro en el sector medio de las mazorcas. Los valores se registraron en centímetros [cm] (IBPGR, 1991).

8. Longitud de la mazorca.

Se midió la longitud de las mazorcas, desde la base en su inserción con el pedúnculo, hasta su ápice. Se registraron los valores en centímetros [cm] (IBPGR, 1991).

9. Rendimiento en choclo.

Se contó el número de choclos de cada clase por parcela neta y se clasificó en base a la norma INEN 761 (1991). A partir de esta clasificación, se determinó el rendimiento de choclos de cada clase por hectárea [ha]. Estos resultados se promediaron y se expresaron como rendimiento total en sacos por hectárea [sacos/ha].

10. Análisis de nitrógeno total en suelo y planta.

Se utilizó el método Semi microkjendahl del Laboratorio de Foliares del Dpto. de Manejo de Suelos y Aguas, de la EESC del INIAP. Los resultados se expresaron en porcentaje [%].

Análisis económico.

1. Presupuesto Parcial y Tasa de Retorno Marginal.

Se determinó el Presupuesto Parcial a través del método propuesto por el CIMMYT (Centro Internacional de Manejo de Maíz y Trigo), 1988. Se calculó el Beneficio Neto en dólares americanos por hectárea [\$/ha] y la Tasa de Retorno Marginal en porcentaje [%], para analizar la conveniencia económica de la utilización de las alternativas de inoculación de *Azospirillum* spp. en maíz.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Variables microbiológicas y agromorfológicas.

Población de microorganismos del suelo y de *Azospirillum* spp.

Se observó la influencia de la población de *Azospirillum* spp. en la población de microorganismos del suelo, evidenciándose el incremento en la población de bacterias solubilizadoras de fósforo y degradadoras de celulosa y la disminución de la población de actinomicetes y hongos, con la inoculación de *Azospirillum* spp. al final del ciclo de cultivo.

Los microorganismos del suelo tuvieron una acción asociativa y antagonista con la población nativa e inoculada de *Azospirillum*. Las bacterias degradadoras de celulosa ayudaron al crecimiento de *Azospirillum* spp. al degradar los residuos vegetales del suelo y hacerlos aprovechables por la bacteria y las bacterias so-

Tabla 1. Mejores tratamientos para población de microorganismos en los suelos.

Microorganismo / Localidad	Actinomicetes		Hongos		Bacterias solubilizadoras de fósforo		Bacterias degradadoras de celulosa	
	Amaguaña	Quinchuquí	Amaguaña	Quinchuquí	Amaguaña	Quinchuquí	Amaguaña	Quinchuquí
	Sin aplicación de <i>Azospirillum</i> spp.							
Población inicial (UFC/gss)	1,25x10 ⁷	3,79x10 ⁸	1,12x10 ⁴	1,66x10 ⁴	1,65x10 ⁴	7,51x10 ⁶	5,24x10 ⁶	3,79x10 ⁶
Con aplicación de <i>Azospirillum</i> spp.								
Tratamientos	c2m3	c4m4	c4m4	c4m4	c2m3	c4m3	c2m4	c2m3
Población final (UFC/gss)	1,34x10 ⁸	1,09x10 ⁸	8,20x10 ²	3,29x10 ²	3,36x10 ⁴	3,04x10 ⁴	1,12x10 ⁶	9,48x10 ⁶
Testigos	tm1	tm4	tm4	tm2	tm2	tm2	tm2	tm2
Población final (UFC/gss)	2,08x10 ⁷	3,50x10 ⁷	2,24x10 ⁴	2,54x10 ⁴	5,69x10 ⁴	4,38x10 ⁴	1,14x10 ⁶	1,59x10 ⁶

c2m3 = cepa de *Azospirillum* spp. de Bolívar + método de inoculación líquido a la semilla.

c4m3 = cepa de *Azospirillum* spp. de Chimborazo + método de inoculación líquida a la semilla.

c2m4 = cepa de *Azospirillum* spp. de Bolívar + método de inoculación sólido a la semilla.

c4m4 = cepa de *Azospirillum* spp. de Chimborazo + método de inoculación sólido a la semilla.

tm2 = testigo de la metodología sólida al suelo

tm4 = testigo de la metodología sólida a la semilla

lubilizadoras de fósforo degradaron e inmovilizaron el fósforo del suelo para permitirle a la bacteria fijar el N₂ en forma asociativa. Se reporta que los actinomicetes y hongos tienen una acción antagonista sobre *Azospirillum* spp., sin embargo este no fue el caso, esto se debió posiblemente a la capacidad que tienen algunas cepas de esta bacteria de producir bacteriocinas y sideróforos para protegerse de otros miembros de la comunidad microbiana e incluso de patógenos de plantas (Caballero, 1998).

Tabla 2. Mejores tratamientos para población de *Azospirillum* spp. en los suelos.

Microorganismo / Localidad	<i>Azospirillum</i> spp.	
	Amaguaña	Quinchuquí
Sin aplicación de <i>Azospirillum</i> spp.		
Población inicial (UFC/gss)	1,81x10 ⁴	1,59x10 ⁵
Con aplicación de <i>Azospirillum</i> spp.		
Tratamientos	c2m3	c2m3
Población final (UFC/gss)	3,17x10 ⁷	4,36x10 ⁷
Testigos	tm2	tm4
Población final (UFC/gss)	1,91x10 ⁵	2,25x10 ⁶

c2m3 = cepa de *Azospirillum* spp. de Bolívar + método de inoculación líquido a la semilla.

tm2 = testigo de la metodología sólida al suelo

tm4 = testigo de la metodología sólida a la semilla.

La población de *Azospirillum* spp. en los suelos de Amaguaña y Quinchuquí también incrementó. Estos resultados indican que la inoculación tuvo éxito y por tanto se realizó la asociación de la bacteria con las raíces

de la planta de maíz y por tanto la multiplicación y colonización en la rizósfera. La cepa c2 resultó ser la más competitiva con los microorganismos del suelo, debido a su versatilidad metabólica y su capacidad para adaptarse al medio rizosférico. La sobrevivencia de *Azospirillum* spp. en su nicho ecológico demuestran que este microorganismo sobrevive por periodos prolongados de tiempo en suelos asociados a las plantas y solo el tamaño de la población puede llegar a variar (Bashan, et al., 1995). Ver Tabla 2.

Porcentaje de emergencia, altura de planta, altura de inserción de mazorca en planta.

La inoculación de *Azospirillum* spp. incrementó emergencia, altura de planta y altura de inserción de mazorca.

Según Kloepper, et al., (1991), *Azospirillum* spp. que es una bacteria productora de auxinas y giberelinas puede incrementar la emergencia de semillas vegetales, por lo cual, también se conoce como bacteria promotora de emergencia. Esta hormona, al igual que las giberelinas y citoquininas secretadas por la bacteria, producen el crecimiento apical de la planta, inducen el alargamiento del tallo, la formación y desarrollo de todos los órganos vegetativos, donde, la altura de inserción de mazorca tienen estricta relación con la

Tabla 3. Mejores tratamientos para las variables agromorfológicas.

Variables /Localidad	Emergencia (%)		Altura de planta (cm)		Altura de inserción de mazorca en planta (cm)	
	Amaguaña	Quinchuquí	Amaguaña	Quinchuquí	Amaguaña	Quinchuquí
Tratamientos	c2m3	c2m3	c2m3	c4m3	c2m3	c2m3
	96,91	93,83	244,67	244	139,67	137,33
Testigos	tm2	tm2	tm2	tm2	tm2	tm2
	82,10	69,14	204,33	197	108	101,33
Bibliográfico	95		238	250	130	140

c2m3 = cepa de *Azospirillum* spp. de Bolívar + método de inoculación líquido a la semilla.

c4m3 = cepa de *Azospirillum* spp. de Chimborazo + método de inoculación líquida a la semilla.

tm2 = testigo de la metodología sólida al suelo.

tm4 = testigo de la metodología sólida a la semilla.

altura de planta, es decir, a mayor altura de planta, mayor altura de inserción de mazorca (Salazar, 1990). En el maíz, una menor altura de inserción de mazorca facilita la cosecha al agricultor, sin embargo, al estar situada en la parte superior, se demuestra que la planta estuvo expuesta mayormente a la luz, donde la tasa de acumulación de materia seca incrementó y por tanto la calidad del grano (Ritchie, et al., 2003).

En Amaguaña, la inoculación líquida de *Azospirillum* spp. de Bolívar a la semilla, incrementó la emergencia de la semilla INIAP 102 en un 96,91%, altura de planta a 244,67 cm, altura de inserción de mazorca en la planta a 139,67 cm; y en Quinchuquí incrementó a 93,83% la emergencia de la semilla INIAP 122, altura de planta a 244 cm y altura de inserción de la mazorca a 137,33 cm, en relación a los testigos y a los valores reportados por abSilva, et al., 2000. Ver Tabla 3.

Daño a la mazorca por el gusano de la mazorca (*Heliothis zea*) y el hongo (*Fusarium moniliforme*).

Se observó una baja incidencia de plagas y hongos en las mazorcass, lo que equivale a un daño ligero, debido a la tolerancia a la pudrición que presentan las variedades de maíz del INIAP y a la acción del aceite comestible que formó una barrera que impidió el ingreso de las larvas hacia los granos tapando los orificios de respiración del gusano y matándolo por asfixia (Dobronski, et al., 1999; abSilva, et al., 2000).

Los resultados indican que la inoculación de *Azospirillum* spp. no influyó en el daño a las mazorcass a causa de plagas y hongos, sin embargo en los tratamientos testigos se observó una mínima influencia, debido a la fuerte intervención del medio ambiente, por lo que algunos tratamientos se vieron fuertemente infectados y otros no.

Tabla 4. Mejores tratamientos para el daño a la mazorca por plagas y hongos.

Variables /Localidad	Daño a la mazorca por <i>Heliothis zea</i> (%)		Daño a la mazorca por <i>Fusarium moniliforme</i> (%)	
	Amaguaña	Quinchuquí	Amaguaña	Quinchuquí
Tratamientos	c2m3	c2m3	c4m1	c2m1,c4m1,c4m2,c2m3,c2m4,c4m4
	0,13	0,09	0	0
Testigos	tm4	tm1	tm1	tm1
	0,64	0,81	5,35	0,09
Bibliográfico	25		25	

c4m1 = cepa de *Azospirillum* spp. de Chimborazo + método de inoculación líquida al suelo.
c2m3 = cepa de *Azospirillum* spp. de Bolívar + método de inoculación líquida a la semilla.
tm1 = testigo de la metodología líquida al suelo.
tm4 = testigo de la metodología sólida a la semilla.

En las mazorcass de la variedad INIAP 102 en Amaguaña, existió un 0,13% de daño por el gusano con la inoculación líquida de *Azospirillum* spp. de Bolívar a la semilla, y en Quinchuquí, el daño a las mazorcass INIAP 122 fue 0,09% con la inoculación sólida de *Azospirillum* spp. de Chimborazo a la semilla. Ver Tabla 4.

Diámetro y longitud de mazorca.

Para las dimensiones de las mazorcass no se observaron diferencias con los valores reportados por abSilva, et al., 2000.

Se puede discutir que los factores responsables de tales regularidades son de tipo climático, ya que el desarrollo de las plantas estuvo influenciada por las condiciones de medio ambiente que afectan la etapa de formación del grano (Saubidet, et al., 2002). Lo que podría ser la causa de los resultados contradictorios también es el uso de material (semillas) con diferente genotipo (Entrevista personal con técnico del Programa de Maíz del INIAP)

Sin embargo, en Amaguaña, con la inoculación sólida de *Azospirillum* spp. de Chimborazo al suelo se obtuvo el mayor diámetro de INIAP 102 que fue 4,71 cm; y en Quinchuquí, con la inoculación sólida de *Azospirillum* spp. de Bolívar al suelo, la mazorca INIAP 122 alcanzó un diámetro de 4,89, que son valores superiores al testigo. Ver Tabla 5.

Tabla 5. Mejores tratamientos para las dimensiones de la mazorca.

Variables /Localidad	Diámetro de mazorca (cm) L		ongitud de mazorca (cm)	
	Amaguaña	Quinchuquí	Amaguaña	Quinchuquí
Tratamientos	c4m2	c4m2	c2m1	c2m1
	4,71	4,89	10,31	10,85
Testigos	tm4	tm4	tm3	tm4
	4,36	4,61	9,68	9,53
Bibliográfico	9 a 10		14,5	

c4m3 = cepa de *Azospirillum* spp. de Chimborazo + método de inoculación líquida a la semilla.
tm3 = testigo de la metodología líquida a la semilla.
tm4 = testigo de la metodología sólida a la semilla.

Porcentaje de nitrógeno total en suelo y plantas.

En este estudio, el bajo contenido de nitrógeno en las plantas inoculadas se debe a que existió una menor cantidad de nitrógeno fijado por *Azospirillum* spp. Las pequeñas cantidades de nitrógeno que aportó la bacteria a través de la fijación biológica de nitrógeno al suelo fue importante en las etapas críticas del desarrollo vegetal, así como la reproducción. Los resultados muestran una mínima deficiencia de nitrógeno en las plantas, ya que los ensayos no fueron fertilizados para aprovechar la fijación biológica del nitrógeno.

Estudios han revelado que la inoculación con *Azospirillum* en gramíneas aporta de 30 a 50% de los requerimientos de nitrógeno por hectárea [ha] de suelo

(Saura, et al., 2003). En plantas se ha indicado que del 5 al 10 % del nitrógeno en trigo y maíz se debe a la fijación de nitrógeno. Sin embargo, existen estudios que han mostrado baja e insignificante actividad nitrógenasa en plantas que responden positivamente a la inoculación, donde menos del 5% de todo el nitrógeno fijado por *Azospirillum* spp. fue incorporado a las plantas (Bashan, et al, 1995).

En Amaguaña, la inoculación líquida de *Azospirillum* spp. de Bolívar a la semilla incrementó el porcentaje

de nitrógeno total en el suelo, en un 2,8% por hectárea [ha]; mientras que en Quinchuquí, el suelo presentó un porcentaje de nitrógeno total de 2,8% por hectárea [ha] con la inoculación sólida de *Azospirillum* spp. de Chimborazo al suelo. La inoculación líquida de *Azospirillum* spp. de Chimborazo al suelo, permitió que la planta de la variedad INIAP 102 presente 1,43% de nitrógeno y en Quinchuquí, las plantas de maíz INIAP 122 presentaron un porcentaje de nitrógeno de 2,92% con la inoculación sólida de *Azospirillum* spp. de Bolívar al suelo. Se puede observar que estas cantidades son mayores a las analizadas inicialmente, a los testigos y a los valores reportados bibliográficamente por abSilva, et al., 2000. Ver tabla. 6

Tabla 6. Mejores tratamientos para el porcentaje de nitrógeno en suelo y planta.

Variables /Localidad	Nitrógeno total en suelo (%)		Nitrógeno total en planta (%)	
	Amaguaña	Quinchuquí	Amaguaña	Quinchuquí
Porcentaje Inicial	0,14	0,21		
Con Aplicación de <i>Azospirillum</i> spp.				
Tratamientos	c2m3	c4m2	c4m1	c2m2
	2,8	2,8	1,43	2,92
Testigos	tm1	tm2	tm2	tm1
	0,7	1,9	0,99	2,26
Bibliográfico	30 a 50		5 a 10	

c2m3 = cepa de *Azospirillum* spp. de Bolívar + método de inoculación líquida a la semilla.
c4m2 = cepa de *Azospirillum* spp. de Chimborazo + método de inoculación sólido al suelo.
c4m1 = cepa de *Azospirillum* spp. de Chimborazo + método de inoculación líquido al suelo.
c2m2 = cepa de *Azospirillum* spp. de Bolívar + método de inoculación sólido al suelo.
tm1 = testigo de la metodología líquida al suelo.
tm2 = testigo de la metodología sólida al suelo.

Rendimiento.

Se observó incrementos en el rendimiento de la variedades INIAP 102 en un 14,34% y de INIAP 122 un 26,60%.

Bibliográficamente el incremento en el rendimiento total de plantas crecidas en campo por efecto de la inoculación con *Azospirillum* spp. es de 10 al 30% y se estima que incrementos del rendimiento por encima del 20% son considerados aceptables, siempre y cuando los resultados sean consistentes (Novo, 2002). Por esta razón los rendimientos obtenidos son muy importantes, para esta investigación y para los agricultores de la serranía del Ecuador.

Tabla 7. Mejores tratamientos para el rendimiento en choclo.

Variables /Localidad	Rendimiento (sacos/ha)	
	Amaguaña	Quinchuquí
Tratamientos	c2m3	c2m3
	271	258,57
Testigos	tm1	tm2
	184,99	160,30
Bibliográfico	237	190

c2m3 = cepa de *Azospirillum* spp. de Bolívar + método de inoculación líquida a la semilla.
tm1 = testigo de la metodología líquida al suelo.
tm2 = testigo de la metodología sólida al suelo.

La inoculación líquida de *Azospirillum* spp. de Bolívar a la semilla, incrementó el rendimiento de la variedad INIAP 102 a 271,99 sacos por hectárea [ha], y de la variedad INIAP 122 a 258,87 sacos por hectárea [ha], cuyos valores son mayores a los testigos y a los

valores reportados por abSilva, et al., (2000). Ver Tabla 7.

Análisis económico.

El Presupuesto Parcial se utilizó como una herramienta de análisis para estimar el resultado económico de la actividad productiva. Se calculo el Beneficio Neto para conocer el valor monetario obtenido en la producción de maíz, además se comparó los costos que varían con los beneficios netos, a través del análisis de Dominancia, ya que para el productor es importante saber el aumento de costos que se requiere para obtener un determinado incremento en el Beneficio Neto. El objeto del Análisis de la Tasa de Retorno Marginal fue revelar exactamente como los Beneficios Netos de esta inversión aumentan al incrementar la cantidad invertida.

La inoculación líquida de *Azospirillum* spp. de Bolívar a la semilla produjo un mayor Beneficio Neto que fue \$ 1938,96 (dólares americanos) por hectárea [ha], y en Quinchuquí presentó un Beneficio Neto de \$ 1840,89/ha. En Amaguaña, aumentó la Tasa de Retorno Marginal a % 2782,46; es decir, que por \$ 1,00 (dólar americano) invertido en adquirir y utilizar el biofertilizante de *Azospirillum* spp, el productor recupera \$1,00 y obtiene \$ 27, 82/ha, y en Quinchuquí, la Tasa de Retorno Marginal fue %1369,53, donde se recupera \$1 y se obtiene de ganancia \$ 13,69/ha. Ver Tabla 8.

Tabla 8. Beneficio Neto y Presupuesto Parcial de los mejores tratamientos.

Variables /Localidad	Beneficio Neto (\$/ha)		Tasa de Retorno Marginal (\$)	
	Amaguaña	Quinchuquí	Amaguaña	Quinchuquí
Tratamientos	c2m3	c2m3	c2m3	c2m3
	1938,96	1840,89	27, 82 1	3,69
Testigos	tm1	tm2		
	1331,94.	1131,17		
Bibliográfico	1706,40	1345		

c2m3 = cepa de *Azospirillum* spp. de Bolívar + método de inoculación líquida a la semilla.
tm1 = testigo de la metodología líquida al suelo.
tm2 = testigo de la metodología sólida al suelo.

CONCLUSIONES.

Los métodos de inoculación de *Azospirillum* spp. fueron los apropiados para esta especie vegetal e hicieron posible que una población óptima de 2x10⁹ UFC/ml de *Azospirillum* spp. actúe de manera beneficiosa sobre la planta demostrando la calidad del inoculante y las buenas técnicas de inoculación en campo que se emplearon para asegurar que la cantidad de bacterias aplicada sea la del inoculante, estas incluyen la esterilidad hasta su transporte al campo y la siembra en condiciones ambientales favorables.

El método de inoculación líquido a la semilla permitió que las bacterias se encuentren adheridas a la zona de germinación y nacimiento de raíces, sin desmerecer, a la inoculación líquida y sólida al suelo, donde al ser depositado el inoculante antes de la semilla, las

bacterias se encontraron en la zona de elongación de raíces. Ambas inoculaciones le permitieron a *Azospirillum* spp. adherirse a las raíces y ser parte de las actividades metabólicas de las plantas de maíz (Zvietcovich, 2004).

La cepa de *Azospirillum* spp. de Bolívar se adaptó y multiplicó en la rizósfera mejorando la biodiversidad del suelo y la interacción planta microorganismo, donde la mayoría de los sustratos necesarios para el crecimiento microbiano y síntesis de hormonas vegetales fueron producidas por la bacteria.

La presencia de AIA y compuestos derivados de los exudados vegetales, fue suficiente para que *Azospirillum* incremente la expresión del gen *ipdC* con el consecuente aumento de la síntesis de AIA, que dio inicio a la respuesta celular y permitió la germinación de la semilla de maíz, el incremento en la longitud y volumen de raíces, lo que mejoró la absorción de nutrientes que luego se acumularon en tallos y hojas, induciendo un cambio significativo en varios parámetros de crecimiento. Finalmente una gran cantidad de estos minerales fueron transferidos a las panículas y espigas incrementando así el rendimiento (Bashan, et al, 1995).

AGRADECIMIENTOS.

Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Estación Experimental Santa Catalina, Programa de Maíz, Departamento de Protección Vegetal.

REFERENCIAS.

BERNAL, G. & GRAHAM, P. 2001. Diversity in the rhizobia associated with *Phaseolus vulgaris* L. in Ecuador, and comparisons with Mexican bean rhizobia. *Canadian Journal of Microbiology*. 47(6):530-531.

BERNAL, G., SUAREZ, A., JEREZ, M., CAMPAÑA, D. 2002. Inoculación de la semilla de leguminosas con la bacteria *Rhizobium*. Plegable Divulgativo No. 195. Estación Experimental Santa Catalina. INIAP. Quito – Ecuador.

CABALLERO, J. 1998. El género *Azospirillum*. Programa de Ecología Molecular y Microbiana. Centro de Investigación sobre Fijación de Nitrógeno. UNAM. Ap. P. 565-A. Cuernavaca – México. Disponible [http://](http://bibliooweb.dgsca.unam.mx/libros/microbios/cap10)

bibliooweb.dgsca.unam.mx/libros/microbios/cap10.

CANTO, J., MEDINA, S., MORALES, D. 2004. Efecto de la inoculación con *Azospirillum* spp. en plantas de chile habanero (*Capsicum chinense* jacquin). *Revista Tropical and Subtropical Agroecosystems*. Vol 4. Yucatán México. Pp: 21 – 27.

CIMMYT, 1986. Manejo de ensayos e informe de datos para el programa de ensayos internacionales de maíz del CIMMYT. México. Pp. 13.

CIMMYT, 1988. La formulación de recomendaciones a partir de datos agronómicos: Un manual metodológico de evaluación económica. México DF – México. P. 79.

ENRÍQUEZ, G. 1991. Descripción y evaluación de los Recursos Filogenéticos: Técnicas para el manejo y uso de los recursos genéticos vegetales. Quito, Ecuador. INIAP. Departamento de Recursos Filogenéticos. pp. 116-117.

ESPINOZA, L. 2004. Caracterización y selección de la bacteria diazotrófica *Azospirillum* spp., asociado con el maíz de altura (*Zea mays* L.). Tesis Doctor en Biología. Universidad Central de Ecuador. Facultad de Filosofía, Letras y Ciencias. Educación Escuela de Biología.

FAO, 2001. Technical Expert Meeting on increasing the use of Biological Nitrogen Fixation (BNF) in agriculture. www.fao.org.

FRIONI, L. 1999. Procesos Microbianos. Tomo II. Editorial de la fundación Universidad Nacional de Río Cuarto. Córdoba. P. 286.

IBPGR, 1991. Descriptors for Maize. International Maize and Wheat Improvement Center. Mexico City. International Board for Plant Genetic Resources. Rome. pp. 9 a 25.

INEN 761., 1991. Norma Técnica Ecuatoriana NTE 1961:1991 para la industria alimentaria, productos agrícolas, hortalizas, choclo maíz tierno. www.inen.gov.ec/normas/index2.php.

KLOPPER, J., ZABLOTOWICZ, R., TIPPING, E., LIFSHITZ, R. 1991. Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizer. Pp. 315-326.

MOLINA, S. 2006. Desarrollo de un biofertilizante a partir de cepas de *Azospirillum* spp. para el cultivo de maíz (*Zea mays* L.), variedad INIAP-102 con dos fertilizaciones químicas y dos fertilizaciones orgánicas. Universidad Técnica de Cotopaxi. Ciencias Agrícolas, Ambientales y Veterinarias. Tesis Ingeniero Agrónomo.

NIETO, C; REA, J; CASTILLO, R; PERALTA, E. 1984. Guía para el manejo y preservación de los recursos fitogenéticos. Publicación Miscelánea # 47. INIAP. Quito, Ecuador. 59 p.

NITRAGIN, 2002. Guía de Inoculantes. Argentina. <http://www.nitragin.com.ar/guiainoc3.asp#Uso%20y%20Aplicación>.

NOVO, R. 2002. Memorias curso internacional de microbiología de suelos, los biofertilizantes y la biofertilización. Quito - Ecuador. ASOINCO.

RITCHIE, S., HANWAY, J., BENSON, G. 2003. Como se Desarrolla una Planta de Maíz. Universidad de Ciencia y Tecnología del Estado de Iowa. Edit. INPOFOS. Reporte especial No. 48. Canadá - Estados Unidos. Pp. 3 a 21.

SALAZAR, P. 1990. El Cultivo de Maíz en el Estado Trujillo. Ingeniero Agrónomo. Divulgativo. FONAIAP - Estación Experimental Trujillo. No. 33. Valera.

SAUBIDET, M., FATTA, N., BARNEIX, A. 2002. The effect of inoculation whith *Azospirillum brasilense* on growth and nitrogen utilization by wheat plants. *Plant Soil* 245:215-22

SAURA, G., FERNANDEZ, R., HIDALGO, J. 2003. Fijador de Nitrógeno, *Azospirillum* spp. Edit FIAGRO (Fundación para la Innovación Tecnológica Agropecuaria), El Salvador. Pp: 1-2.

SILVA, E., DOBRONSKY, J., HEREDIA, J. 2000. Variedad de Maíz Blanco Harinoso para la provincia de Chimborazo. "Blanco Blandito mejorado". INIAP 102. Boletín divulgativo No. 181. Programa de Maíz. Estación Experimental Santa Catalina. Quito-Ecuador.

SILVA, E., DOBRONSKY, J., HEREDIA, J. 2000. Variedad de Maíz Amarillo Harinoso Precoz para la provincia de Imbabura. "Chaucho mejorado" INIAP 122. Boletín divulgativo No. 159. Programa de Maíz. Estación Experimental Santa Catalina. Quito-Ecuador.

VENTIMIGLIA, L. Y CARTA, H. 2005. Inoculación en soja: un nuevo sistema que permite mejorar la captura de nitrógeno. Técnicos de la Unidad de Extensión y Experimentación Adaptativa. INTA 9 de Julio. Pp: 2-3.

YÁNEZ, C. 2007. Manual de producción de maíz para pequeños agricultores y agricultoras. Proyecto de emergencia para la rehabilitación agro productiva de la Sierra del Ecuador. FAO/TCP/ECU/3101. Quito - Ecuador. Pp: 5, 10-17.

ZVIETCOVICH, G. 2004. Los Inoculantes. Fertilizantes Biológicos Nitrogenados para cultivo de leguminosas, gramíneas, raíces y tubérculos, hortalizas y frutales.

ESTUDIO DEL EFECTO DE GLUCOXIDASAS Y ALFA-AMILASAS EN LA ELABORACIÓN DE PAN CON SUSTITUCIÓN PARCIAL DE HARINA DE PAPA (*Solanum tuberosum*) NACIONAL
STUDY OF THE GLUCOXIDASE AND ALFA-AMYLASE EFFECT IN THE BREAD ELABORATION WITH PARTIAL SUSTITUTION OF NATIONAL POTATO FLOUR (*Solanum tuberosum*)

**Pulloquina Marcela¹, Lascano Alexandra², Rodríguez María³,
Alvarez Mario⁴, Sandoval Galo⁵**

^{1,2,3} Universidad Técnica de Ambato, Ingeniería en Alimentos, ^{4,5} Unidad Operativa de Investigación de Tecnología de Alimentos (UOITA), Campus Académico Huachi- Av. Los Chasquis y Río Payamino, Ambato, Ecuador
E-mail: marcela_j22@hotmail.com, alexlasca4@hotmail.com, marioferalv@hotmail.com

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue estudiar el efecto de glucoxidasa y alfa-amilasa en mezclas 80% harina de trigo importado-20% harina de papa nacional con mejorantes en la calidad del pan mediante análisis farinográficos, alveográficos y en el mixolab. Se determinó como mejor tratamiento a la muestra a1b2: 100 ppm ácido ascórbico + 250 ppm estearil 2-lactilato de sodio + 30 ppm azodicarbonamida + 75 ppm alfa-amilasa + 200 ppm glucosa oxidasa, mediante análisis estadístico a un nivel de significancia de 5% puesto que presenta mejores características reológicas para ser utilizada como harina panadera; tomando en cuenta que es una harina de calidad discreta se debe controlar el mezclado y fermentación. Se evaluaron las características físicas del pan con mejorantes (peso, diámetro, altura y volumen) que resultaron mejores que las del pan sin mejorantes. La evaluación sensorial del pan control y pan con mejorantes (a1b2) presentaron igual aceptación ($p < 0,05$). La evaluación microbiológica mostró poblaciones de mohos y levaduras, aerobios mesófilos y coliformes totales encontrándose dentro de los requisitos permitidos. La textura de pan control y pan con mejorantes a un tiempo de tres días resultó similar ($p < 0,05$) debido a la acción de mejoradores, sin daño alguno de sus propiedades mecánicas. Mediante el análisis bromatológico, minerales y aminoácidos se determinó que la harina de papa precocida es buena fuente de minerales repercutiendo en un porcentaje mayor en el pan con mejorantes (a1b2), además existe una mayor cantidad de aminoácidos que el pan con harina de trigo importado.

Palabras claves: alfa-amilasa, glucoxidasa, harina de papa, pan.

SUMMARY

The objective of this research is to study the effect of glucoxidases and alpha amylases in mixtures containing 80% of imported wheat flour and 20% of national potato flour with additives for improving the bread quality through analysis farinographic, alveographic and in the mixolab. It was determined the best treatment was the sample a1b2: 100 ppm ascorbic acid + 250 ppm stearyl 2-sodium lactylate + 30 ppm azodicarbonamide + 75 ppm alpha-amylase + 200 ppm glucose oxidase, through statistical analysis for a significance level of 5% because it presented better rheological characteristics to be employed as flour for bread, considering that it has discrete quality the mixture and the fermentation shall be controlled. The physical characteristics of the bread with the improvers were evaluated (weight, diameter, high and volume) and the bread without additives showed the best ones. The sensorial evaluation for the control bread as well as for the bread with the improvers (a1b2) showed the same acceptance ($p < 0,05$). The microbiological evaluation for molds and yeast populations, for aerobic and mesophilic ones as well as total coliforms showed they were in the allowed levels. The control bread and the bread with additives texture after three days resulted to be similar ($p < 0,05$) due to the improvers, without any damage of the mechanical properties. Through the bromatological analysis, minerals and amino acids, it was determined that the precooked potato is a good source of minerals having repercussions in a higher percentage for the bread with improvers (a1b2), additionally there is a great quantity of amino acids than in the bread made with imported wheat flour.

Key words: alfa-amylase, glucoxidase, potato flour, bread.

INTRODUCCIÓN

Los mejorantes son una mezcla a base de aditivos y coadyuvantes que van a ayudar a corregir las distintas anomalías en la harina o a potenciar alguna de sus características, con el fin de obtener la harina que mejor se adapte al proceso de elaboración. Los mejorantes más utilizados para elaborar productos de panificación son emulgentes, antioxidantes (actuando como oxidantes), enzimas (coadyuvantes tecnológicos). [Mejorantes Panarios., 2007]

Para hacer un buen uso de este producto es necesario conocer las características de la harina como es la humedad, cenizas, proteínas, gluten, fuerza, tenacidad, extensibilidad, capacidad de absorción de agua, ya que el efecto del mejorante será distinto en unas harinas que en otras en función de sus características.

La dosificación, debe ser precisa ya que dosis elevadas del mismo, puede limitar los sabores característicos de las piezas, o dar cambios no deseables en las masas. [Mejorantes Panarios., 2007]

Uno de los métodos para evaluar el valor panadero de las harinas es el examen en el Alveógrafo de Chopin, equipo que permite estudiar el comportamiento de una lámina de masa en condiciones determinadas [Rollin E., 1962]. Otro examen se hace en el Farinógrafo de Brabender que mide la consistencia de la masa mediante la fuerza necesaria para mezclarla a una velocidad constante y la absorción del agua necesaria para alcanzar esta consistencia. [Pantanelli A., 1996]

Actualmente existe otro equipo como el Mixolab Chopin que permite caracterizar el comportamiento reológico de una masa sometida a amasado y temperatura. [Clair L., 2009]

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Harina de trigo importado variedad Canadá Western Red Spring (CWRS # 1).

Harina de papa nacional (*Solanum tuberosum*).

Mejoradores panarios

Enzimas: alfa-amilasas y glucoxidasas.

Oxidantes: ácido ascórbico y azodicarbonamida.

Emulsificantes.

Esteaoril 2-lactilato de sodio.

Equipos

Farinógrafo BRABENDER

Mixolab CHOPIN

Alveógrafo CHOPIN

Texturómetro BROOKFIELD

Método

Para evaluar el efecto de alfa-amilasa y glucoxidasas, en pan elaborado con sustitución parcial de harina de papa se sigue la siguiente metodología.

Preparación de mezclas

Se prepararon mezclas con 80% harina de trigo importado y 20% harina de papa precocida, y la adición de mejorantes panarios de acuerdo al diseño experimental, para este estudio se utilizó un diseño factorial A*B, con dos replicas. Los factores y niveles de estudio fueron:

A. Concentración de alfa-amilasas

a0 = 50 ppm

a1 = 75 ppm

a2 = 100 ppm

B. Concentración de glucoxidasas

b0 = 100 ppm

b1 = 150 ppm

b2 = 200 ppm

Además, se añadieron otros mejorantes en concentraciones fijas como:

Ácido ascórbico: 100 ppm

Azodicarbonamida: 30 ppm

Esteaoril 2-lactilato de sodio: 250 ppm

Evaluación de propiedades reológicas de las mezclas con aditivos.

A partir de las mezclas se evaluó sus propiedades reológicas mediante el uso de equipos como:

Farinógrafo: su método está basado en el manual de funcionamiento del equipo BRABENDER, acorde al método ICC-Standard N°155. Y el Mixolab: su método está basado en el manual de funcionamiento del equipo Chopin acorde a la norma ICC-Standard N°173.

Se eligió el mejor tratamiento con los parámetros farinográficos a través de un Análisis de Varianza a $\alpha=0,05$.

Con la mezcla del mejor tratamiento se evaluó la calidad de la harina mediante el uso del Alveógrafo: su método está basado en el manual de funcionamiento del equipo Chopin acorde a la norma ICCN° 121.

Elaboración de pan

Se preparó pan control (100% harina de trigo importado) y pan con mejorantes utilizando la siguiente formulación: harina 100%, grasa 15%, sal 2%, azúcar 10%, levadura 4% y agua >55%.

Se realizó la caracterización del pan con las mezclas de harinas de todos los tratamientos con el fin de corroborar la elección del mejor tratamiento seleccio-

nado mediante los parámetros obtenidos de los farinogramas.

Evaluación de cambios de textura de la miga del pan
Considerando que la textura es un importante factor de calidad se evaluó la textura de la miga del pan con mejorantes y control durante tres días y utilizando el Texturómetro: su método está basado en el manual de funcionamiento del equipo TextureAnalyzer CT3. No. M/08-371A0708

Evaluación sensorial del pan

A partir del pan con mejorantes conjuntamente con la muestra del pan control (harina de trigo importado) se evaluó las características sensoriales mediante atributos como: sabor, color de la corteza, textura, apariencia y aceptabilidad utilizando una escala hedónica estructurada [Anzaldúa-Morales A., 1998]. Se empleó 50 catadores no entrenados (consumidores frecuentes) ambos sexos.

Evaluación microbiológica del pan

Se determinó recuentos de: aerobios mesófilos, mohos y levaduras y coliformes totales en pan con mejor tratamiento mediante los métodos establecidos por las normas INEN 1529-7, INEN 1529-5 e INEN1529-10.

Composición proximal, minerales y aminoácidos de harinas y panes

Para el análisis de aminoácidos de los panes provenientes del mejor tratamiento y control se recurrió al Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) en un cromatógrafo líquido de alta eficiencia "Shimadzu". En los análisis proximales, y minerales se utilizan métodos de la AOAC.

Análisis estadístico

Se aplicó análisis estadísticos para el diseño A*B acoplado al estudio, mediante el programa Statgraphics

Centurion XV, en donde se analizaron los datos a través de un Análisis de Varianza (ANOVA) y como existe diferencia significativa entre los tratamientos se aplicó la Prueba de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de nueve tratamientos obtenidos del diseño A*B, se determinó el mejor tratamiento resultando ser el a1b2 que contiene las siguientes concentraciones de mejoradores:

- 100 ppm alfa-amilasa
- 200 ppm glucosa oxidasa
- 100 ppm ácido ascórbico
- 250 ppm estearoil 2-lactilato de sodio
- 30 ppm azodicarbonamida.

En la Tabla 1., se detalla las características reológicas de harina de trigo, mezcla de harinas con y sin mejorantes, medidas en el farinógrafo, mixolab, y alveógrafo. Se observa que todas las características se modificaron significativamente ($p < 0,05$) al incluirse mejorantes panarios a la mezcla pura, lo que es atribuido a la naturaleza enzimática y química diferente de los mejorantes y además por el nivel de adición de la harina de papa.

Al añadirse harina de papa, el incremento de la absorción de agua respecto a la masa de harina de trigo importado fue de 4,6 a 6,6 %, el alto poder de hidratación es debido a la precocción de la harina de papa [Proyecto PHPPE, 2009]. La adición de mejorantes en las harinas como; alfa-amilasas que promueven la producción de almidón dañado, por otra parte la glucosa oxidasa refuerza el gluten, azodicarbonamida y emulsificantes contribuyen al aumento de absorción de agua. [Tejero F., 2008.]

Tabla 1. Características reológicas de las muestras 100% puras y mejor tratamiento a1b2

Absorción de agua (%)	65 ^a	71,60 ^b	69,6 ^c
Tiempo de desarrollo (min) 4	,60 ^a	1,75 ^b	1,70 ^b
Estabilidad (min)	7,65 ^a	2,60 ^b	4,43 ^c
Índice de tolerancia (min) 7	0,50 ^a	104,50 ^{ab}	110 ^b
Características reológicas proporcionadas por el mixolab estándar			
Desarrollo de la masa (Par)	1,10 ^{ab}	1,095 ^b	1,125 ^a
Debilitamiento de la proteína (Par) 0	,41 ^a	0,175 ^b	0,17 ^b
Gelatinización del almidón (Par)	1,57 ^a	1,31 ^b	0,695 ^c
Actividad amilásica (Par) 1	,50 ^a	0,93 ^b	0,555 ^c
Retrogradación del almidón (Par)	2,183 ^a	1,30 ^b	0,63 ^c
Características alveográficas			
Tenacidad (P)mm H2O	120	145	119
Extensibilidad (L) mm 7	0	40 4	6
Equilibrio (P/L) 1	,71	3,63 2	,59
Fuerza (W)* 10 ⁻⁴ (J)	311	227	201

Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Los parámetros de tiempo de desarrollo e índice de tolerancia se mantuvieron similares a las mezclas sin mejorantes y menores a la harina de trigo importado. El indicador que se incrementó en el farinograma fue la estabilidad de la masa, que es el requerido para alcanzar su consistencia máxima.

La mezcla de harina con mayor tiempo de estabilidad es el tratamiento 6 (a1b2) con 4,43 minutos lo que permite calificarla como una harina de calidad discreta ya que presentan una estabilidad >4 minutos [Pantanelli A., 1996], por tanto, al tratarse de harinas de baja calidad proteica, el proceso de fermentación debe ser corta y controlada [Calaveras, J. 2004]. Por otra parte, el índice de tolerancia muestra valores altos, que son indicativos de la tolerancia de la harina al mezclado [Fernández, M. y col. 2007].

Este comportamiento debe tenerse en cuenta durante el proceso, pues en operaciones como el mezclado, si se prolonga, puede provocar una pérdida de consistencia de la masa y adherencia a los equipos, lo que dificultaría la ejecución de las operaciones posteriores. Por lo que el proceso de amasado debe ser controlado.

En el análisis en el Mixolab Standar se observó claramente la buena calidad panadera de la harina de trigo importado puesto que muestra una buena formación de la masa, bajo debilitamiento de proteína, la gelatinización del almidón es más amplia, actividad amilásica y retrogradación adecuada; mientras que en las mezclas de harinas tratadas con mejorantes se observa un mejoramiento en el debilitamiento de las

proteínas, mayor gelatinización y actividad amilásica, y una retrogradación más lenta lo que permite mantener una miga fresca por mayor tiempo.

Mediante el análisis alveográfico, se determinaron para la harina de trigo importado, la mezcla pura y el mejor tratamiento valores de fuerza (W) > 201*10⁻⁴ J, y un equilibrio (P/L) >1 considerando como harinas más tenaces que extensibles, pues se consideran de este tipo a harinas que presentan una fuerza (W)>

200 *10⁻⁴ J [Pantanelli A., 1996], con la adición de mejoradores se logró disminuir la tenacidad en el mejor tratamiento, por lo tanto las condiciones de equilibrio se vieron mejoradas, por ende estas muestras presentan buenas aptitudes para panificación, a pesar de la disminución de la calidad proteica en las mezclas de harinas.

En las mezclas de harinas sin mejorantes los resultados indican, con excepción del aumento de la capacidad de absorción de agua, que repercute en la absorción panadera y eleva los rendimientos, un deterioro del resto de las características reológicas de la masa de harina de trigo con harina de papa, y explica los menores valores alcanzados en las características del pan con harina de papa en comparación con el pan control. De aquí la necesidad del empleo de mejorantes panarios, con los que se contrarrestó estos efectos adversos, y obtuvo panes con harina de papa de mejor calidad. [Pantanelli A., 1996]

Se evaluaron las características físicas y volumen en pan redondo como se presenta en la Tabla 2, determinando diferencia significativa a un nivel de significancia del 0.05, observando que las mezclas de harinas con mejorantes presentan características muy cercanas a las del pan con harina de trigo importado. La característica que se mejoró con la adición de mejoradores panarios en la mezcla de harinas, es el volumen indicando que este efecto se debe a la adición de ácido ascórbico, azodicarbonamida, y glucosa oxidasa que ayudan en gran parte al aumento de volumen del pan [Tejero F., 2008]. La adición de α-amilasa permite el crecimiento durante el horneado y, por tanto, el volumen del pan aumenta considerablemente. [Cauvain, S y Young, L. 1998]

Se evaluó los cambios de textura de la miga de pan durante tres días como se observa en la Tabla 3, mediante parámetros mecánicos como: dureza, trabajo de dureza terminado, deformación recuperable y elasticidad del pan con harina de trigo importado y pan con mezclas y mejorantes.

Tabla 2. Características físicas y volumen de las muestras 100% puras y mejor tratamiento a1b2

Características físicas	Pan con harina de trigo importado CWRS # 1	Pan con mezcla de harina sin mejorantes	Pan con mezcla de harina y mejorantes (a1b2)
Peso (g)	50,75 ^a	53,35 ^b	51,80 ^{ab}
Diámetro (cm)	8,58 ^a	7,52 ^c	7,75 ^b
Altura (cm) 5	,54 ^a	3,63 ^b	5,05 ^a
Volumen (cm ³)	226 ^a	139,5 ^c	197,75 ^b

Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas para p ≤ 0,05.

Tabla 3. Evaluación de los cambios de textura de la miga del pan.

Parámetros mecánicos	Pan con harina de trigo importado CWRS # 1			Pan con mezcla de harinas y mejorantes (a1b2)		
	Día 1 D	ía 2 D	ía 3 D	ía 1 D	ía 2 D	ía 3
D (g)	478 ^a	745,50 ^a	911 ^a	450 ^a	797 ^a	886 ^a
TDT (m J)	5,05 ^a	8,40 ^a	11,45 ^a	5,05 ^a	8,95 ^a	10,60 ^a
DR (mm)	1,37 ^a	1,56 ^a	1,715 ^a	1,38 ^a	1,48 ^a	1,55 ^a
E (mm)	2,365 ^a	2,405 ^a	2,53 ^a	2,33 ^a	2,43 ^a	2,485 ^a

Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

La firmeza del pan es un indicador de frescura y ésta se ve afectada por el envejecimiento, dando lugar a cambios en los componentes principales como son almidones, proteínas, lípidos y agua. [De La Llave, A. 2004].

La textura, referida como la presión necesaria para penetrar en la muestra, no presentó diferencia significativa ($p < 0,05$) en el pan control y pan con mejorantes (a1b2), la textura se determinó mediante la dureza la misma que está relacionada con el trabajo de dureza terminado y deformación recuperable, y la elasticidad la misma que cambia a medida que cambian las propiedades mecánicas del alimento [Castro, E. 2007].

Es decir que en el pan analizado, estas propiedades no han sufrido un cambio significativo, por ende el pan a los tres días presenta una miga tierna y suave, esto se debe a la adición de mejorantes en especial emulsificantes que son los encargados de alargar el tiempo de

vida útil. Por ende se concluye que a mayor elasticidad mayor envejecimiento del pan.

En la Tabla 4, se presenta la evaluación sensorial del pan, los panelistas mostraron igual preferencia ($p < 0,05$) por el pan control (harina de trigo importado CWRS #1) y pan con mejorantes (a1b2) en los atributos analizados (apariencia, color, sabor, olor, textura y aceptabilidad). Estos aspectos son importantes indicadores al considerar la inclusión de mejorantes y harina de papa hasta una proporción del 20% del total de harina utilizada en la elaboración de pan redondo. Resultando una buena viabilidad de la sustitución parcial de la harina de trigo en estos productos.

Tabla 4. Evaluación sensorial.

Características físicas	Harina de trigo importado CWRS # 1	Mezcla de harina con mejorantes (a1b2)
Apariencia	3,97 ^a	3,97 ^a
Color 3	,10 ^a	3,02 ^a
Sabor 4	,08 ^a	4,18 ^a
Textura	3,47 ^a	3,71 ^a
Aceptabilidad	4,07 ^a	4,28 ^a

Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

En la Tabla 5., se refleja la evaluación microbiológica realizada al pan del mejor tratamiento a1b2, mostrando valores de aerobios mesófilos, coliformes totales y mohos y levaduras, inferiores a los niveles establecidos para este producto [Castro, E. 2007], lo que garantiza que el pan obtenido es apto para el consumo desde el punto de vista sanitario.

Tabla 5. Evaluación microbiológica del pan con sustitución parcial de harina de papa con mejorantes (a1b2).

m/o	Aerobios mesófilos (ufc/g pan)	Coliformes totales (ufc/g pan)	Mohos y levaduras (ufc/g pan)
Recuentos			
Replica 1	8*10 ³	Ausente	Ausente
Replica 2	28 *10 ³	Ausente	Ausente
Replica 3	23*10 ²	Ausente	Ausente
Límites máx.ufc/g	100.000	500	Ausencia

La composición química proximal del pan control y pan con mejorantes se presentan en la Tabla 6. A simple vista se evidencia diferencia en el contenido de proteína cruda y cenizas. Estas variaciones se ven influenciadas por el porcentaje de harina de papa incorporada a la harina de trigo. Además, se observa una energía calórica similar, importante en la alimentación diaria.

Tabla 6. Composición proximal de panes

Componentes	Pan con harina de trigo CWRS	Pan con mejorantes (a1b2)
Humedad (%)	6,59 5	,16
Cenizas (%)	2,09 2	,82
Fibra (%)	1,41 1	,89
Proteína (%)	12,17	11,06
Grasa (%)	12,59	11,87
Carbohidratos (%)	71,74	72,36
Energía calórica (Kcal)	448,95	440,51

La composición de minerales se detalla en la Tabla 7, determinando que es mayor en el pan con mejorantes, esto se debe a la composición de la papa, conteniendo abundantes micronutrientes, sobre todo vitamina C, hierro, potasio, fósforo y magnesio[Prokop, S. 2008].

Pero es importante mencionar que ambas muestras de pan proporcionan cierta cantidad de minerales, y se complementan con otros alimentos.

Tabla 7. Composición de Minerales de muestras de Pan (%/100 g muestra en base seca)

Minerales	Pan con harina de trigo CWRS	Pan con mejorantes (a1b2)
Calcio%	0,02	0,02
Fosforo %	0,33	0,4
Magnesio %	0,03	0,04
Potasio %	0,2	0,44
Sodio %	0,67	0,82
Cobre ppm	4	6
Hierro ppm	74	66
Manganeso ppm	9	8
Zinc ppm	37	49

En la Tabla 8, se presentan la composición de aminoácidos en pan control y pan con mejorantes, en comparación con los aminoácidos de referencia establecidos por el Institute of Medicine, National Academy of Science, del 2002 para niños y adultos.

Tabla 8. Comparación de Aminoácidos de pan y patrones (g/100 g de proteína)

Amino-ácidos	Pan con harina de trigo CWRS	Pan con mejorantes (a1b2)	Patrón de Aminoácidos para niños > 1 año y adultos*
Ácido aspártico	4,01	6,17	-
Treonina	2,51	2,75	2,7
Serina	4,41	4,25	-
Ácido glutámico	35,57	34,78	-
Prolina	9,71	7,26	-
Glicina	3,87	3,34	-
Alanina	3,19	2,59	-
Cistina	2,10	1,42	-
Valina	4,62	4,59	3,2
Metionina	1,63	1,67	2,5(Met + Cis)
Isoleucina	3,12	3,34	2,5
Leucina	6,25	6,59	5,5
Tirosina	3,19	3,84	-
Fenilalanina	4,89	5,50	4,7(Fen + Tir)
Histidina	2,38	2,84	1,8
Lisina	1,90	2,34	5,1
Arginina	6,04	5,84	-
Triptófano	0,61	0,92	3,2

*Institute of Medicine, National Academy of Science, 2002

Se identificaron 17 aminoácidos de los 20 presentes en las proteínas. Los aminoácidos del pan control y pan con mejorantes se encuentran dentro de los patrones establecidos, a excepción de la lisina que es el aminoácido limitante, determinando mayor síntesis de aminoácidos y otros componentes en pan con mezclas de papa y trigo importado.

CONCLUSIONES

Se evaluó el efecto de las enzimas glucosa oxidasa y alfa-amilasa, de nueve mezclas de harinas (80% harina trigo importado; 20% harina de papa) con mejoradores, mediante parámetros reológicos proporcionado por el farinógrafo, mixolab y alveógrafo, los mismos que permiten conocer la calidad panaria de las mezclas, determinando que el tratamiento 6 (a1b2) presenta características panaderas adecuadas para la elaboración de pan.

Se determinó la mejor concentración de oxidantes, enzimas y emulsificantes en la mezcla de harina (20% harina de papa; 80% harina de trigo importado) destinada a la elaboración de pan, resultando el tratamiento a1b2 con la mejor concentración de mejorantes, el mismo que contiene: 100 ppm de ácido ascórbico + 250 ppm de esteaoril 2-lactilato de sodio + 30 ppm de azodicarbonamida + 75 ppm de alfa-amilasa + 200 ppm de glucosa oxidasa, mediante un análisis estadístico aplicando un diseño factorial A*B a través de ANOVA y Prueba de comparación múltiple de Tukey a un nivel de confianza del 95%, tomando como criterio aquellos tratamientos que presentaron características farinográficas afines con la muestra control (Harina de Trigo importado CWRS#1) en especial la estabilidad con tiempo de 4,43 minutos.

La incorporación de la harina de papa incrementó el aporte de minerales y mayor síntesis de aminoácidos, componentes de interés nutricional.

AGRADECIMIENTOS

Un sincero agradecimiento a la Universidad Técnica de Ambato y la SENESCYT por el financiamiento del presente proyecto. A la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y a la Unidad Operativa de Investigaciones en Tecnología de Alimentos UOITA por las facilidades brindadas a las diferentes actividades de investigación.

REFERENCIAS

- [1] ANZALDÚA-MORALES, A. 1998. "Evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica". Editorial Acribia. Zaragoza-España. Pág.: 198.
- [2] CALAVERAS, J. 2004. "Tratado de panificación y Bollería" Segunda Edición, Editorial ENESA, Ma-

drid-España, Pág. 53-59, 89 -90, 174- 193.

[3] CASTRO, E. 2007. "Parámetros mecánicos y textura de los alimentos". Tesis de grado. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química. Universidad de Chile. Pág.

[4] CAUVAIN, S y YOUNG, L. 1998. "Fabricación del Pan". Editorial Acirbia. Zaragoza-España. Pág. 60-69

[5] CLAIR, L. 2009. Mixolab: "Análisis completo de la harina". Chopin technologies Laboratoire d' Applications ALIM. Disponible: www.granonews.com/descargas/Mixolab-System_ES.pdf

[6] DE LA LLAVE, A. 2004. "Efecto de la adición de fibra soluble sobre las características fisicoquímicas y sensoriales en un producto de panificación". Tesis Licenciatura. Ingeniería de Alimentos. Departamento de Ingeniería Química y Alimentos, Escuela de Ingeniería, Universidad de las Américas Puebla. Mayo. Pág. 36-45

[7] FERNANDEZ, M. y col. 2007. "Caracterización del pan suave con fibra de soya". Revista Ciencia y Tecnología de Alimentos Vol. 17, No. 2. Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia. La Habana-Cuba. Pág. 13-14.

[8] MEJORANTES PANARIOS. 2007. Obtenido de: <http://www.foros.net/viewtopic.php?t=15525&mforum=Mundopadres>

[9] PANTANELLI A. 1996. "Parámetros Industriales de la Calidad del Trigo" Obtenido de: http://www.aaprotrigo.org/calidad%20panadera/parametros_industriales_calidad_trigo.htm

[10] PROYECTO PHPPF. 2009. "Desarrollo de Mezclas Farináceas de Cereales (maíz, quinua y cebada) y papas ecuatorianas como sustitutos parciales del trigo importado para la elaboración de pan y fideos". UTA-SENACYT.

[11] PROKOP, S. 2008. "Las papas, la nutrición y la alimentación". Año Internacional de la Papa. Disponible en: www.potato2008.org

[12] ROLLIN, E. 1962. "Tratado de panadería y pastelería". Editorial Sintet. Barcelona-España. Pág.: 38-39, 420-421.

[13] TEJERO F. 2008. "Los mejorantes en panificación". Molinería y Panadería. Disponible en: <http://www.franciscotejero.com/tecnicamejorantes/los%20mejorantes>

ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LOS TIEMPOS DE PRECOCCIÓN AL VAPOR EN FIDEOS ELABORADOS CON DIFERENTES MEZCLAS FARINÁCEAS.

STUDY OF THE INFLUENCE OF STEAMING PRECOOKING TIMES IN NOODLES PREPARED WITH DIFFERENT FARINACEOUS MIXES.

Ricardo Martínez Cáceres, Gladys Navas Miño y Galo Sandoval Chasi (†)

Universidad Técnica, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos
Ambato-Ecuador
ricdan66@hotmail.es

RESUMEN

La presente investigación evaluó los cambios fisicoquímicos que ocurren en fideos obtenidos a partir de diferentes mezclas farináceas cuando se las somete a tres diferentes tiempos de precocción con vapor (15, 20, 25min), se considerará para esto, una mezcla al 80% de harina de trigo importado con un 20% proveniente de 5 diferentes harinas, elaboradas a partir de productos nativos como: cebada, maíz, quinua, trigo nacional y papa.

Se observó en las diferentes pastas que el vapor realizaba una pregelatinización del almidón, lo que conlleva directamente a una disminución de los tiempos de cocción, también se generó la degradación de proteínas que incide en una disminución del porcentaje de absorción de agua, los tiempos de precocción están relacionados de forma directa con el porcentaje de humedad, así como también con pequeños ascensos de acidez y por último el hecho de una reducción del tiempo de exposición del producto en agua hirviendo (cocción), conllevó a una disminución de los porcentajes de disgregación de la masa del fideo en el agua de cocido.

Con los resultados fisicoquímicos, se llegó a la conclusión de que el fideo obtenido a partir de un 20% de harina de cebada con 80% de harina de trigo importado, alcanzaba las mejores condiciones de factibilidad para su elaboración y los mejores parámetros de calidad en comparación con las otras mezclas. El fideo mencionado se diferencia en su calidad sensorial con productos obtenidos a partir del mismo procedimiento pero con una diferente composición, factores como el aroma, el color y el sabor del producto son considerados por algunos catadores como valores agregados del alimento.

El análisis microbiológico demostró la asepsia del procedimiento para la obtención de los fideos, la composición porcentual del producto, demuestra un elevado contenido de proteínas y corrobora la versatilidad de la mezcla para elaborar fideos, así como también se observa un elevado valor energético.

SUMMARY

This research evaluated the physicochemical changes that occur in noodles obtained from different flour mixtures when they are treated at three precooking times with steam (15, 20, 25 min), considering a mixture of 80% of imported wheat flour and 20% from other 5 different flours which are made of native products as: barley, corn, quinoa, national wheat and potato.

It was observed in the different pastas that the steam made a pregelatinization of the starch, leading to a directly decrease of the cooking times, it also generated the degradation of the proteins that had incidence on the decrease of the water absorption percentage, the precooking times are directly related to the humidity percentage, as well as to a little increasing of the acidity, and the fact of a reduction of the exposition of the product to boiling water (cooking) led to the decrease of the noodles dough disintegration percentage in the cooking water.

With the physicochemical results, it was concluded that the noodles obtained from 20% of barley flour and 80% of imported wheat flour, reached the best feasibility conditions for its production and the best quality parameters in comparison with other mixtures. The mentioned noodle was differenced due to its sensorial characteristics in relation to the other products obtained with the same procedure but with different compositions, factors as the aroma, color and flavor were considered for several tasters as plus values of the product.

The microbiological analysis showed the asepsis of the noodles making procedure, the composition of the product proved a high content of proteins and corroborated the versatility of the mixture for noodle making and also a high energetic value.

INTRODUCCIÓN.

Actualmente los productos precocidos se han convertido en alimentos muy apetecidos alrededor del mundo, debido a los ritmos acelerados de vida los cuales han provocado que las personas adquieran una preferencia hacia productos de fácil y rápida preparación.

Los fideos instantáneos aparecen por primera vez en Japón en 1950, actualmente este producto es fabricado en 80 países alrededor del mundo. Se ha conseguido ampliar el mercado en donde se comercializa los fideos instantáneos, una de las razones principales para esto se ha producido por los cambios demográficos, mismos que se pueden atribuir al hecho de que el mundo es cada vez más pequeño debido a los grandes avances en el transporte y las telecomunicaciones. [1]

El trigo es un cereal utilizado como materia principal para la elaboración de fideos, sin embargo en Sudamérica se producen otros productos de los cuales se obtienen harinas, mismas que pueden sustituir de forma parcial e incluso total a la harina de trigo. [2]

En Ecuador el alza de costo del trigo esta afectando fuertemente a la industria molinera nacional porque el trigo representa el 70% del costo de la harina, insumo que es utilizado a su vez en la fabricación del pan y los fideos. La intensión de muchos gobiernos de países sudamericanos es impulsar algunas iniciativas que contribuyan a disminuir la dependencia del trigo importado, debido a los altos costos del mismo, lo que ha cobrado mayor fuerza en los últimos meses del año 2008.[4]

La idea de realizar fideos en base a diferentes mezclas entre la harina de trigo importado y la harina obtenida a partir de un cereal o tubérculo andino, nace a raíz de la información obtenida sobre la versatilidad que presentan estos productos, mismos que han proporcionado alimentos agradables y con alto valor nutritivo. Además se ha detectado la tendencia en la sociedad por el consumo de productos precocidos de fácil y rápida preparación.

Zapata, 1979, planteó que la precocción es un tratamiento térmico, en algunos casos termomecánico que se lo utiliza para obtener entre otras cosas la gelatinización de almidones, inactivación de enzimas y microbios, disminución del tiempo de cocción necesario para la preparación de los alimentos y facilidad de almacenamiento. [3]

Analizar las ventajas de un fideo precocido elaborado a partir de una mezcla farinácea que reemplaza parcialmente a la harina de trigo importado, lleva a la implementación de tecnologías dentro de la industria fideera, generando mayores ingresos para la economía de las mismas y además se promueve el cultivo de productos nativos, los cuales por ser propios de la región no generan fuertes impactos ambientales y mas bien aportan a la preservación de la soberanía alimentaria dentro del país.

MATERIALES Y MÉTODOS.

Materiales.

Se trabajo con 6 diferentes tipos de harina, para obtener fideos a partir de una mezcla al 80% de harina de trigo importado (Canada Western Red Spring # 1) y un 20% de harinas nativas: harina de cebada (variedad Cañicapa), harina de maíz (variedad INIAP-122), harina de quinua (variedad Tuncahuán), harina de trigo nacional (variedad Cojitambo), harina de papa (variedad Gabriela).

Métodos.

El procedimiento descrito a continuación fue adaptado del método utilizado para la elaboración de fideos, mencionado en el Proyecto PHPPF, 2009 [4]

Recepción.- Adquisición de materia prima de óptima calidad, evitando alguna alteración o contaminación, es importante para garantizar la inocuidad y la calidad del producto final.

Pesado.- Se toma en cuenta el peso de la materia prima con la finalidad de aplicar las diferentes formulaciones existentes para la elaboración de pastas.

Mezclado.- Esta operación consiste en mezclar una cantidad determinada de harina con agua (35 partes de agua por 100 de harina), sal y metabisulfito de sodio (concentración de 50ppm), entre sí hasta formar una mezcla homogénea. Una buena mezcla facilita la subsiguiente operación de amasado, haciéndola más rápida.

Amasado.- Este proceso sirve para hacer más homogénea la incorporación entre sí de los gránulos de la harina, de esta manera se obtiene una buena mezcla; se mantendrá suave, elástica, lisa y sin asperezas, evitando de esta forma que al ser moldeada presente estrías, resquebrajaduras e irregularidades. Es evidente que del amasado dependerá principalmente el aspecto de la lámina para la elaboración de la pasta, su estructura uniforme y hasta el sabor. Esta operación dura alrededor de 15 minutos.

Laminado.- Consiste en pasar y enrollar varias veces la masa a través de dos cilindros lisos, que se acercan el uno al otro a cada pasada con una determinada medida. Se obtiene así, una lamina de color uniforme, pulida y perfectamente homogénea. El tiempo de laminado dependerá del tipo de mezcla de harinas, así para mezclas de harinas con el 20% de sustitución un tiempo de 15 minutos obteniendo una lámina uniforme y maleable.

Trefilado.- Esta operación consiste en dar forma a la pasta, introduciéndola en los cilindros cortadores hasta obtener láminas de pasta (tallarines) del mismo espesor y longitud. La pasta ya con forma se coloca sobre bandejas de superficie perforada las cuales se ponen en un transportador para luego ser llevadas a la precocción.

Precocción.- Es un proceso termodinámico que consiste en utilizar vapor húmedo (temperatura entre 87-

90°C) teniendo como objetivos la gelatinización de la fracción almidonosa para mejorar la digestibilidad del producto y disminuir los tiempos de cocción.

Secado.- El objetivo del secado es disminuir el contenido de humedad del producto a 12 o 13% de manera que los fideos presenten una vida útil alargada, mantengan su forma y se almacenen sin deteriorarse, por lo que esta operación es muy delicada ya que la pasta es higroscópica y un inadecuado secado conllevaría a una fermentación de la pasta si este fuera muy lento, o de lo contrario si fuera muy rápido se tuviera la formación de microfisuras las cuales conllevarían a la rotura de la pasta. Luego de observar varios métodos, se llegó a la conclusión de que el más eficaz, era el secado al ambiente (por 3 horas), con el cual se obtuvo resultados satisfactorios.

Empacado.- El producto se coloca en fundas de polipropileno 08H85DB con un contenido de 100g; luego se sellan para asegurar su buena conservación e higiene durante su almacenamiento, transporte y expendio.

Almacenado.- El producto se almacena en lugares secos, bien ventilados y sobre lugares que garanticen una buena circulación de aire.

Diseño experimental.

De acuerdo al problema de investigación, se establece una comparación entre los tratamientos provenientes de las mezclas entre harina de trigo importado más harina de cereales y un tubérculo nacional (trigo, cebada, maíz, quinua, papa) con la muestra patrón o testigo: harina de trigo importado CWRS#1, sometidas a la misma condición de temperatura pero tomando en cuenta tres diferentes tiempos de exposición de los fideos al vapor (15, 20 y 25 minutos), por lo que se considera aplicar un Diseño de Dos Factores A*B con tres réplicas, obteniendo un total de 54 tratamientos.

Parámetros de control.

Determinación de humedad según el Método 930,15 A.O.A.C. 1996.

Determinación de tiempo de cocción propuesto por: Arquerros, V. 2009; GRANOTEC Argentina.

Porcentaje de hinchamiento propuesto por: Arquerros, V. 2009; GRANOTEC Argentina.

Determinación de materia orgánica total o extracto seco propuesto por Arquerros, V. 2009; GRANOTEC Argentina.

Determinación de acidez titulable; Norma Técnica Peruana NTP 206.013.-1981

Determinación de recuento total de Aerobios mesófilos. INEN 1529-5: 2008.

Determinación de recuento de mohos y levaduras INEN 1529-10.

Determinación de coliformes totales INEN 1529-7.

La calidad sensorial para los 4 mejores tratamientos obtenidos a partir de la interacción mezcla de la que proviene el fideo y tiempo de precocción, fue evaluada por 10 panelistas entrenados, de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, utilizando una escala sensoriométrica, con 2 réplicas realizadas en distintos días.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Tiempos de cocción

En la Tabla 1 se detallan los tiempos de cocción necesarios para que el nervio (zona central del producto de color claro, de los diferentes fideos provenientes de una determinada mezcla), haya desaparecido por completo, se dice en ese momento que el almidón se ha gelatinizado en su totalidad.

Los promedios de tiempos de cocción en los fideos estudiados son variables, se ven afectados de forma directa por los dos factores (tiempo de precocción en vapor y mezcla a la que pertenece el fideo); el claro ejemplo de esto es la muestra patrón, es decir, el fideo obtenido a partir de una mezcla de agua y harina de trigo importado (variedad Canada Western Red Spring # 1), presenta los menores tiempos de cocción y al igual que en las diferentes mezclas, estos sufren variaciones de acuerdo al tiempo de exposición de la muestra al vapor a la que fueron sometidos previamente.

La gelatinización alcanzada por la cocción en agua es un proceso hidrotérmico (calentamiento en exceso de agua), mediante el cual el gránulo pierde la estructura cristalina y sufre un proceso de hinchamiento irreversible. [2]

El proceso de precocción también conlleva a una desnaturalización de proteínas y fibra, es decir las pérdidas de las propiedades estructurales mas no de las propiedades alimenticias. En un proceso de precocción previo a la cocción de un fideo existe una baja en el contenido de proteínas, esta disminución puede ser más notoria cuando el proceso térmico es acompañado por un proceso mecánico. Este decremento en el porcentaje proteico hace suponer que se producen reacciones entre proteínas y otros constituyentes de la mezcla (azúcares reductores, lípidos). [2]

El análisis de la interacción mezcla a la que pertenece el fideo y tiempo de precocción se detalla en la Figura 1, en base a ésta se aprecia la diferencia que existe entre los tratamientos expuestos a 15 minutos de precocción al vapor y estos mismos tratamientos sometidos a un tiempo de 25 minutos de precocción.

Hay una línea intermedia correspondiente al tiempo de exposición de los fideos equivalente a 20 minutos, esta curva coincide en algunos sectores con las curvas correspondientes a los valores de 15 y 25 minutos, es así que en dos puntos pertenecientes a los tratamientos 1 y 2 (mezcla al 20% de harina de cebada y mezcla al 20% de harina de trigo nacional respecti-

vamente), no se aprecian cambios considerables para los tiempos de precocción de 15 y 20 minutos.

En otro sector de la figura se indica que no existe variación considerable entre el tratamiento 3 (mezcla al 20% de harina de maíz) cuando a ésta se le expone a tiempos de precocción de 15 y 20 minutos. Para los tratamientos restantes, es decir, en la muestra patrón o tratamiento 0, muestra 4 (mezcla al 20% de harina de quinua) y muestra 5 (mezcla al 20% de harina de papa) se distingue claramente variaciones entre los tres diferentes tiempos de precocido.

Se concluye en base a los datos reportados en la Figura 1 que para la mayoría de tratamientos, existe una relación inversamente proporcional entre los tiempos de precocción en vapor y los tiempos de cocción en agua.

Humedad

El agua es un componente fundamental en la mayor parte de alimentos, la cantidad de agua tiene incidencia directa sobre las características de calidad, tales como textura, sabor, color, gusto, valor nutricional del producto y su tiempo de conservación.

Los datos promediales en todos los casos no superan al valor recomendado en las diferentes normas, incluso los datos aquí planteados son inferiores al porcentaje recomendado para una harina cualquiera sea ésta, que es de un 13 o 14%.

En la Tabla 2 se puede deducir que a mayores tiempos de precocción, existirá una mayor penetración de moléculas de agua hacia los componentes del fideo, las cuales requieren de un esfuerzo considerable en el caso de que se requiera retirarlas.

En la Figura 2, se denota de mejor manera la relación proporcional entre el tiempo de precocido y la humedad del producto final, exceptuando los tratamientos antes mencionados.

En esta figura se aprecia que el tratamiento con una menor humedad es la interacción a2b0, correspondiente a la mezcla de harina de trigo importado con harina de trigo nacional al 20% y 15 minutos de precocido al vapor, cercano a esta humedad se encuentra el tratamiento perteneciente a la interacción a4b0, correspondiente al mismo tiempo de precocido del anterior pero perteneciente a la mezcla al 20% de harina de quinua, y muy cercana a esta se encuentra la interacción a5b0 correspondiente al mismo tiempo de precocido de las dos anteriores y perteneciente a la mezcla al 20% de harina de papa.

Las dos últimas interacciones mencionadas son las que alcanzaron valores de tiempos de cocción elevados; en consecuencia se dice que el agua no pasó a formar parte de la composición del fideo, debido a que existió una menor degradación del almidón, esto conllevó a mayores tiempos de cocción en agua.

No existe homogeneidad entre la humedad de las mezclas, en otras palabras estas son diferentes en todos los casos, existe una particularidad en la mezcla correspondiente a harina de cebada al 20% mezclada con harina de trigo importado, debido a que esta no muestra mayores cambios en su humedad cuando existen incrementos en los tiempos de precocido.

Se tiene claro entonces que el porcentaje de humedad que ingresa en un fideo, cuando se lo somete a un proceso de precocción, va de la mano con el grado de gelatinización o degradación que experimentan las moléculas presentes en la harina utilizada, como materia prima fundamental en la elaboración del mismo y esto es apreciado en las figuras 1 y 2.

Acidez

En la Tabla 3 se aprecia un incremento de acidez conforme existe un aumento en el tiempo de precocido, en consecuencia también se produce un ascenso en la humedad y decremento en el tiempo de cocción, se denota igualmente variaciones en estos valores cuando se modifica la formulación.

En la Figura 3, se detalla de manera más clara las variaciones en los valores de acidez, poniéndose de manifiesto los cambios entre cada tratamiento y los tiempos de precocido, aunque para este último caso los datos se diferencian entre el primer tiempo de precocción (15 minutos) y los dos últimos (20 y 25 minutos), los cuales en la figura no denotan mayores cambios.

Poder de hinchamiento

El almidón es insoluble en agua fría; pero es capaz de retener agua. El agua se adhiere a la superficie de los gránulos de almidón, algo se introduce por las grietas y lleva el gránulo a su hinchamiento (hinchamiento de poros). El hinchamiento se acelera por calentamiento. El almidón sano retiene en las pastas y masas aproximadamente un tercio de su propio peso en agua. [7]

En la Tabla 4 se detalla el porcentaje de hinchamiento en fideos precocidos, luego de haber sido sometidos al proceso de cocción. El almidón puede sufrir varias transformaciones, estas pueden ser reversibles o irreversibles, mismas que dependen de los tiempos y el medio de cocción, la temperatura alcanzada y la velocidad de calentamiento.

Hay que tener en cuenta que en este tipo de alimentos ya existió un ingreso previo de moléculas de agua hacia el fideo antes del proceso de cocción, en consecuencia también se produjo una penetración de estas al interior del almidón, mismas que para ser retiradas hubieran requerido de procesos de secado fuertes o radicales que conllevarían a la pérdida de características organolépticas del fideo.

Por otra parte temperaturas elevadas conllevan a una pérdida de las propiedades funcionales de las proteínas, las cuales pueden limitar el poder de hinchamiento, pues incrementan la capacidad de retención de agua, reduciendo la evaporación lo cual favorece el poder de hinchamiento. [2].

En consecuencia al analizar estos dos párrafos se puede concluir que la temperatura y el ingreso de moléculas de agua en el proceso de pregelatinizado, conlleva a una reducción del índice de expansión del fideo o porcentaje de hinchamiento del mismo, esto se debe a una degradación de las moléculas de almidón y proteínas presentes en las harinas, que influyen directamente en la pérdida de las propiedades funcionales de estos compuestos.

Es así que mayores tiempos de precocido, provocan una reducción en los tiempos de cocción, pero también implican pérdidas de las propiedades estructurales y elásticas de almidones y proteínas, esto es apreciado en la Tabla 4.

En la Figura 4 se denota que en la muestra patrón a0, correspondiente al fideo precocido obtenido con un 100% de harina de trigo importado, presenta una diferencia entre los porcentajes de absorción de agua, esto debido principalmente a la degradación de los componentes presentes (proteínas y almidón) en el fideo, es así que a un mayor tiempo de precocción, se reduce el porcentaje de hinchamiento, por pérdida de las propiedades funcionales del almidón y las proteínas, entonces estos parámetros tienen una relación indirecta.

Porcentaje de materia seca.

En la Tabla 5 se encuentran reportados los valores de porcentaje de materia seca, resultante del paso de partículas sólidas desde el fideo hacia el agua de cocción. Este es un parámetro muy importante, ya que con el mismo se tiene una visión clara de la estabilidad y homogeneidad del fideo, alcanzada luego de los diferentes procedimientos necesarios para la obtención de éste.

Mediante esta tabla se aprecia que no existe variación a ser tomada en cuenta, con la incidencia de la interacción de los factores mezcla a la que corresponde el fideo y tiempo de precocido.

En la Figura 5 se observa de mejor manera la incidencia de los factores A y B combinados, en la obtención de los valores de porcentaje de materia seca, es así que se concluye, que el tiempo de precocido en las diferentes mezclas no va generando variaciones representativas en los datos de materia seca, esta figura sin embargo denota una diferencia entre las cuatro primeras mezclas con bajos porcentajes de materia seca y las últimas que alcanzan un elevado porcentaje de residuo seco, decantado en el agua de cocción.

Pruebas sensoriales.

En base al análisis estadístico de los resultados obtenidos en los parámetros fisicoquímicos se obtuvo como mejores tratamientos a las muestras resultantes de la interacción a1b1 y a1b2 correspondientes a las mezclas al 20% de harina de cebada y al 20% de harina de trigo nacional, con 20 minutos de precocido, sin embargo se toma en cuenta también la muestra resultante de la interacción a3b1 perteneciente a la mezcla al 20% de harina de maíz, debido a que ésta alcanzó

los menores porcentajes de materia seca, así como también la interacción presenta un aroma y tonalidad muy agradables, por último ésta no presentó mayor problema al momento de su elaboración.

Se pretendió con esta prueba que cada uno de los catadores evalué el producto, a partir de características como: sabor, aroma, color, pegajosidad y es así que en la Tabla 6 se aprecia diferentes criterios en base a la aceptabilidad de cada uno de los panelistas.

Las condiciones fueron similares en todos los casos, por tanto el tiempo de precocido tuvo que ser el mismo para evitar cualquier tipo de alteración en los resultados, es así que partiendo del tratamiento que alcanza las mejores condiciones fisicoquímicas “a1b1” (mezcla al 20% de harina de cebada y 20 minutos de precocido), se considera un tiempo de precocción al vapor equivalente a 20 minutos.

Se consideró una escala sensométrica, la cual midió 15 cm y por tanto estuvo dividida en tres secciones de 0 a 5cm equivalente a desagradable, de 5 a 10cm equivalente a poco agradable y de 10 a 15cm equivalente a muy agradable.

Para la muestra 156 (a0b1) correspondiente al fideo obtenido a partir del 100% de harina de trigo importado y 20 minutos de tiempo de precocido, existe un 40% de panelistas que mencionan que la muestra es poco agradable, y el 60% restante menciona que la muestra es muy agradable.

Para la muestra 323 (a1b1) correspondiente al fideo obtenido a partir de un 20% de harina de cebada y 20 minutos de tiempo de precocido, el 60% de catadores mencionan que el producto es poco agradable, mientras que el 40% restante de panelistas menciona que el producto es muy agradable.

Para la muestra 612 (a2b1) correspondiente al fideo obtenido a partir del 20% de harina de trigo nacional y 20 minutos de precocido, el 80% de personas consultadas sugieren que la muestra de fideos llevados a catación es poco agradable; mientras que solo un 20% mencionan que los fideos son muy agradables.

Para la muestra 541(a3b1) correspondiente al fideo obtenido a partir del 20% de harina de maíz y 20 minutos de precocido, el 70% de catadores mencionan que los fideos son poco agradables, mientras que el 30% de panelistas sugieren que los fideos tienen una aceptabilidad muy agradable.

Se puede apreciar a partir de estos resultados que los fideos difieren en los valores de aceptabilidad con el tratamiento patrón o la muestra proveniente del 100% de harina de trigo importado; sin embargo se estima que la aceptabilidad entre los fideos provenientes del 20% de harina de cebada a1b1 y al 20% de harina de maíz a3b1, tienen una aceptabilidad muy cercana entre estos y no muy alejada de la muestra patrón.

Pruebas microbiológicas.

El fideo a pesar de no ser una fuente rica en nutrientes, puede ser cultivo para la presencia de algunos microorganismos, debido al elevado porcentaje de compuestos, como almidones, aminoácidos y un elevado contenido de agua.

Los parámetros microbiológicos le permiten al fabricante o investigador, observar la calidad aséptica de las materias primas como del producto final.

Por el motivo mencionado, en la Tabla 7 se encuentran reportados los resultados del análisis microbiológico (ufc/g), en el fideo obtenido a partir del 20% de harina de cebada y 20 minutos de tiempo de precocido en vapor.

En este análisis se utilizó un medio PCA para conteo de aerobios mesófilos, donde se puede observar un valor de 315,5 ufc/g, para conteo de mohos y levaduras, a partir de un medio PDA, se alcanzó un valor de 121,6 ufc/g y para coliformes se tiene un dato de 9,0 ufc/g. Los resultados se encuentran dentro del estándar mencionado por normas INEN para fideos instantáneos en donde se destaca un valor de aerobios mesófilos de $3,0 \times 10^5$ ufc/g, para mohos y levaduras un valor de 2×10^2 ufc/g y para coliformes un valor de $1,3 \times 10$ ufc/g, datos que se encuentran muy por encima del valor conseguido para la muestra obtenida en el laboratorio a1b1 (mezcla al 20% de harina de cebada y 20 minutos de precocido).

Composición porcentual del alimento

Se estableció la composición porcentual del nuevo producto en la Tabla 8 (interacción a1b1 correspondiente a la mezcla al 20% de harina de cebada y 20 minutos de precocido), en donde se aprecia dos componentes fundamentales en el fideo como son los carbohidratos que alcanzan un 83,62% y la proteína con 14,01%.

En el porcentaje de minerales del producto se aprecia la no existencia de elementos como el Sn y Pb, metales pesados con características residuales y que en porcentajes elevados atentan a la salud del consumidor, por otro lado el bajo contenido de metales como el Na, Ca, Mg y K y el no metal P, le otorgan al fideo un valor nutricional agregado, ya que por ejemplo en fideos presentes en el mercado, el único mineral tomado en cuenta es el Na.

CONCLUSIONES

Se estudió la influencia de los tiempos de precocción en fideos obtenidos a partir de 5 diferentes mezclas farináceas (al 20% de harinas nativas), como son: trigo importado-trigo nacional; trigo importado-cebada; trigo importado-maíz; trigo importado-quinua; trigo importado-papa; utilizando vapor húmedo a tres diferentes tiempos de precocido: 15, 20 y 25 minutos, en donde se analizó parámetros de calidad como tiempo de cocción, humedad, acidez, poder de hinchamiento y porcentaje de materia seca, a partir del análisis y discusión de estos resultados, se observa-

rón las mejores condiciones para la elaboración de un tipo de fideo precocido.

Se realizó 5 diferentes análisis a los tratamientos obtenidos de la interacción mezcla farinácea y tiempo de precocido, en donde se observó resultados que muestran las características fisicoquímicas del fideo, de esta forma se apreció que los fideos guardan una relación inversamente proporcional entre el tiempo de precocido y el tiempo de cocción, también fue notorio que el proceso de precocido incide en el aumento de porcentajes de humedad y pequeños ascensos en la acidez, finalmente la pérdida de propiedades funcionales de los componentes del fideo desencadenó un decremento en el poder de retención de agua, mientras que no se obtuvo variaciones considerables en el material sólido depositado en el agua de cocción, ya que este valor se mantuvo constante o sufrió leves variaciones dependiendo de la de la mezcla farinácea.

Se evaluaron los resultados de los 5 análisis y tomando en cuenta que un fideo precocido es un alimento que posee un alto grado de degradación de sus componentes, así como también un elevado índice de digestibilidad y bajos tiempos de preparación, se llega a la conclusión de acuerdo al análisis estadístico, que el fideo que alcanzó estas características, es el obtenido a partir de la interacción de la mezcla al 20% de harina de cebada con 20 minutos de precocido en vapor "a1b1", puesto que presenta valores de 3 minutos y 57 segundos de tiempo de cocción, 10,17% de humedad, 0,018% de ácido láctico, 112% de poder de hinchamiento y un 8,43% de materia seca; para el caso del primer valor, éste fue el que más se acercó al dato alcanzado por el fideo obtenido a partir de harina de trigo importado, mientras que los otros valores evidencian los cambios experimentados en el producto.

REFERENCIAS

- [1] VIRTUCIO, L., 2001. Tallarines Orientales "Programa de investigación y desarrollo" disponible en: www.povam.com
- [2] ARCENTALES, R. 2003 "Diseño de un Equipo Extrusor HPLV destinado a la elaboración de snacks" Universidad Central del Ecuador-Facultad de Ingeniería Química. Pags. 23-68
- [3] MINESOTA P., 1994. "Desarrollo de alimentos precocidos por extrusión a base de maíz-leguminosa AACC" (American Association of Cereal Chemist). "Approved Methods". disponible en: www.aacc.scie-lo.com/news_details.asp?id=17917
- [4] PROYECTO PHPPF, 2009. "Desarrollo de Mezclas Farináceas de Cereales (maíz, quinua y cebada) y papas ecuatorianas como sustitutos parciales del trigo importado para la elaboración de pan y fideos". UTA-SENACYT.
- [5] ARQUEROS, V. 2009. "Cómo optimizar el Control de Calidad de Pastas: Materias Primas y Producto Terminado". GRANOTEC Argentina.
- [6] VARGAS, A y SÁNCHEZ, 2006. "Estudio de la obtención de un alimento partiendo de cultivos

andinos” Productos Colombianos Bogota-Colombia Págs. 20-22

[7] Guoquan, Hou., 1998 “Effect of steaming time on microstructural changes of instant noodles” disponible en: <http://pdfcast.org/pdf/the-effect-of-steaming-time-on-microstructural-changes-of-instant-noodles>

[8] ASTUDILLO, F.1999 “Problemas Ambientales asociados con la Agricultura en Sudamérica” Editorial Prensa Moderna. Buenos Aires-Argentina. Págs: 38-72

[9] CERDA, L., 2010. “Estudio de las propiedades funcionales de proteínas de las harinas de maíz (Zea mays), cebada (Hordeum vulgare), quinoa (Chenopodium quinoa), papa (Solanum tuberosum), trigo (Triticum aestivum) nacional e importado para orientar su uso panificación y pastas”. Tesis de Grado, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Pág. 14-22,121

[10] COLINA, J., GUERRA, M. “Cinética de secado en bandejas de arroz integral precocido” Universidad Simón Bolívar departamento de procesos biológicos y bioquímicos Caracas-Venezuela, disponible en: CIBIA vol 16(1) Pág. 205-207

[11] COMBARIZA A., SÁNCHEZ D., 2006. “Estudio de la obtención de un alimento precocido a partir de cultivos biofortificados” Productos Colombianos Bogota-Colombia. Pag 5-10

[12] DANA, O., 1987. “Manual de Ciencia de los Alimentos”. Editorial Acribia. Pág. 27

[13] H. Egan, R.S. Kirk, R. Sawyer, Análisis Químicos de Alimentos de Pearson, Compañía Editorial Continental, S.A. De C.V. Pág. 56-57

Tabla 1. Tiempos de cocción en fideos precocidos obtenidos a partir de diferentes mezclas farináceas

Tratamientos	Tiempos de cocción			Promedio (s)
	R1 (s)	R2 (s)	R3 (s)	
a ₀ b ₀	215	212	225	217
a ₀ b ₁	213	195	200	203
a ₀ b ₂	173	193	188	185
a ₁ b ₀	260	275	280	272
a ₁ b ₁	230	233	248	237
a ₁ b ₂	235	240	235	237
a ₂ b ₀	265	270	265	267
a ₂ b ₁	238	243	243	241
a ₂ b ₂	243	240	243	242
a ₃ b ₀	285	275	283	281
a ₃ b ₁	288	288	280	285
a ₃ b ₂	270	273	258	267
a ₄ b ₀	280	288	280	283
a ₄ b ₁	278	280	268	275
a ₄ b ₂	260	270	263	264
a ₅ b ₀	283	283	275	280
a ₅ b ₁	260	263	273	265
a ₅ b ₂	238	245	243	242

Tabla 2 Porcentajes de humedad observados en fideos precocidos obtenidos a partir de diferentes mezclas farináceas.

Tratamientos	Humedad			Promedio
	R1 (%)	R2 (%)	R3 (%)	
a ₀ b ₀	9,8	9,9	9,5	9,73
a ₀ b ₁	10,1	11,9	12,1	11,37
a ₀ b ₂	11,5	11	11,1	11,20
a ₁ b ₀	9,8	10,2	10,1	10,03
a ₁ b ₁	9,9	10,3	10,3	10,17
a ₁ b ₂	10,5	9,8	10	10,10
a ₂ b ₀	8,9	8,5	8,9	8,77
a ₂ b ₁	10,5	10,5	11	10,67
a ₂ b ₂	11,4	10,9	10,9	11,07
a ₃ b ₀	10	9,8	10	9,93
a ₃ b ₁	10,4	10,5	10,7	10,53
a ₃ b ₂	12	12,1	11,3	11,80
a ₄ b ₀	8,9	8,8	9,1	8,93
a ₄ b ₁	9,9	9,3	9,7	9,63
a ₄ b ₂	10,1	10,8	10	10,30
a ₅ b ₀	9	9,4	8,8	9,07
a ₅ b ₁	9,4	9,4	9,1	9,30
a ₅ b ₂	10,3	10,3	9,7	10,10

Tabla 3 Hidróxido de sodio (mg) necesario para neutralizar la acidez presente en fideos precocidos obtenidos a partir de diferentes mezclas farináceas

Tratamientos	Acidez (mg de ácido)			Promedio
	R1 (s)	R2 (s)	R3 (s)	
a ₀ b ₀	0,07	0,08	0,08	0,08
a ₀ b ₁	0,10	0,08	0,10	0,09
a ₀ b ₂	0,10	0,11	0,13	0,11
a ₁ b ₀	0,06	0,07	0,08	0,07
a ₁ b ₁	0,12	0,13	0,13	0,13
a ₁ b ₂	0,10	0,12	0,14	0,12
a ₂ b ₀	0,09	0,08	0,09	0,09
a ₂ b ₁	0,10	0,12	0,11	0,11
a ₂ b ₂	0,11	0,12	0,11	0,11
a ₃ b ₀	0,12	0,12	0,12	0,12
a ₃ b ₁	0,15	0,14	0,12	0,14
a ₃ b ₂	0,12	0,15	0,14	0,14
a ₄ b ₀	0,12	0,13	0,12	0,12
a ₄ b ₁	0,11	0,13	0,14	0,13
a ₄ b ₂	0,13	0,13	0,12	0,13
a ₅ b ₀	0,13	0,12	0,13	0,13
a ₅ b ₁	0,14	0,13	0,13	0,13
a ₅ b ₂	0,14	0,13	0,14	0,14

Tabla 4. Porcentaje de hinchamiento medido en fideos precocidos obtenidos a partir de diferentes mezclas farináceas

Tratamientos	Porcentajes de hinchamiento			Promedio
	R1 (%)	R2 (%)	R3 (%)	
a ₀ b ₀	126	134	146	135
a ₀ b ₁	114	126	120	120
a ₀ b ₂	105	100	110	105
a ₁ b ₀	122	116	118	119
a ₁ b ₁	117	112	108	112
a ₁ b ₂	104	110	110	108
a ₂ b ₀	108	106	106	107
a ₂ b ₁	106	106	112	108
a ₂ b ₂	104	110	96	103
a ₃ b ₀	122	114	120	119
a ₃ b ₁	122	118	118	119
a ₃ b ₂	110	108	106	108
a ₄ b ₀	112	108	104	108
a ₄ b ₁	100	104	102	102
a ₄ b ₂	104	102	100	102
a ₅ b ₀	118	112	122	117
a ₅ b ₁	116	110	114	113
a ₅ b ₂	102	108	110	107

Tabla 5 Porcentaje de materia seca medida en fideos precocidos obtenidos a partir de diferentes mezclas farináceas.

Tratamientos	% MATERIA SECA			Promedio
	R1 (%)	R2 (%)	R3 (%)	
a ₀ b ₀	7,825	8,15	7,75	7,91
a ₀ b ₁	7,575	7,425	7,625	7,54
a ₀ b ₂	7,45	7,775	7,475	7,57
a ₁ b ₀	8,325	8,6	8,65	8,53
a ₁ b ₁	8,4	8,6	8,275	8,43
a ₁ b ₂	8,575	8,125	8,125	8,28
a ₂ b ₀	9,075	9,2	9,4	9,23
a ₂ b ₁	9,325	9,05	9,175	9,18
a ₂ b ₂	9,025	9,225	8,975	9,08
a ₃ b ₀	7,3	7,15	7,5	7,32
a ₃ b ₁	7,25	6,9	7,375	7,18
a ₃ b ₂	7,025	7,3	7,375	7,23
a ₄ b ₀	11,45	11,65	11,45	11,52
a ₄ b ₁	11,025	11,275	11,275	11,19
a ₄ b ₂	11,125	10,95	10,9	10,99
a ₅ b ₀	10,225	10,375	10,45	10,35
a ₅ b ₁	10,15	10,3	10,2	10,22
a ₅ b ₂	10,025	10,15	10,125	10,10

Tabla 7 Resultados del análisis microbiológico.

Muestras	Fideo precocido resultado de la mezcla al 20% de harina de cebada y 80% de harina de trigo importado						
Medios							
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	ufc/g
PCA	22	19	11	13	4	1	315,5
PDA	10	13	3	0	1	0	121,6
Cristal violeta	2	0	0	0	0	0	9,0

Tabla 8. Composición porcentual de fideos y pan, elaborados en el laboratorio de la UOITA, como parte del proyecto PHPPF

	CENIZAS	E.ETEREO.	PROTEÍNA	FIBRA	C.H.	HUMEDAD
Muestra	%	%	%	%	%	%
Fideo precocido al 20% de harina de cebada	0,96	0,20	14,01	1,21	83,62	9,69
	Ca	P	Mg	K	Na	
	%	%	%	%	%	
	0,03	0,46	0,06	0,30	0,08	

Fuente: Proyecto de Harinas Para Pan y Fideos-UOITA

Elaborado por: Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias

Tabla 6 Respuestas de 10 panelistas consultados que califican la aceptabilidad, de 4 diferentes muestras, pertenecientes a fideos precocidos.

Muestras	Replicas	CATADORES				
		1	2	3	4	5
156 (a ₀ b ₁)	R ₁	10,8	11	10,3	12,5	11,6
	R ₂	10,9	10,4	9,5	11,0	10,9
	Promedio	10,9	10,7	9,9	11,8	11,3
323 (a ₁ b ₁)	R ₁	9,3	9,1	10,5	12,0	8,1
	R ₂	10,1	8,9	9,4	11,8	6,9
	Promedio	9,7	9,0	10,0	11,9	7,5
612 (a ₂ b ₁)	R ₁	9,5	8,1	7,8	10,5	7,2
	R ₂	8,4	9,2	7,4	11,0	7,6
	Promedio	9,0	8,7	7,6	10,8	7,4
541(a ₃ b ₁)	R ₁	10,1	10,1	8,6	9,5	7,4
	R ₂	8,5	10,9	9,3	12,1	7,9
	Promedio	9,3	10,5	8,9	10,8	7,65
Muestras	Replicas	CATADORES				
		6	7	8	9	10
156 (a ₀ b ₁)	R ₁	8,3	9,9	10,8	11,9	12,3
	R ₂	8,2	7,3	9,0	10,5	12,0
	Promedio	8,3	8,6	9,9	11,2	12,2
323 (a ₁ b ₁)	R ₁	7,3	8,1	10,4	13,3	6,7
	R ₂	9,9	8,0	9,9	12,5	9,2
	Promedio	8,6	8,1	10,2	12,9	8,0
612 (a ₂ b ₁)	R ₁	6,9	7,8	10,9	12,0	8,9
	R ₂	6,1	6,9	8,1	10,3	8,1
	Promedio	6,5	7,4	9,5	11,2	8,5
541 (a ₃ b ₁)	R ₁	8,0	7,4	10,3	13,0	10,1
	R ₂	9,3	7,9	9,4	11,4	9,3
	Promedio	8,65	7,6	9,8	12,2	9,7

Figura 1. Fideos obtenidos a partir de diferentes mezclas farináceas vs. Tiempos de cocción, a tres diferentes tiempos de precocido.

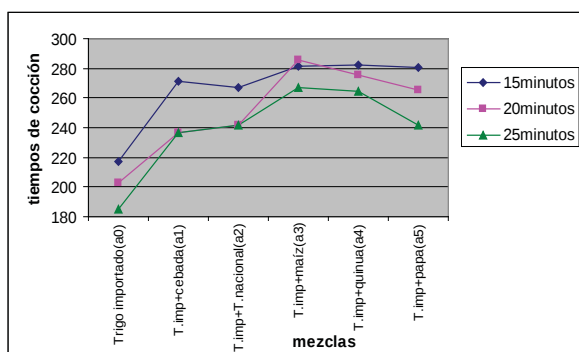


Figura 2 Fideos obtenidos a partir de diferentes mezclas farináceas vs. Porcentaje de humedad, a tres diferentes tiempos de precocido

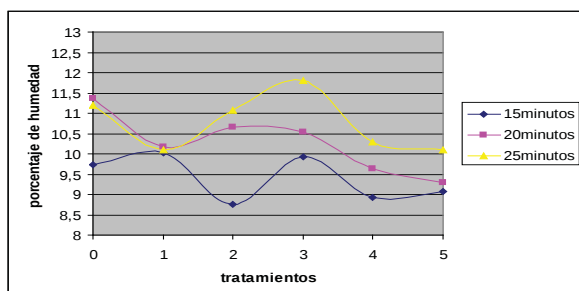


Figura 3 Fideos obtenidos a partir de diferentes mezclas farináceas vs. mg de NaOH, necesarios para neutralizar la acidez en fideo, a tres diferentes tiempos de precocido.



Figura 4 Fideos obtenidos a partir de diferentes mezclas farináceas vs. Porcentaje de hinchamiento, a tres diferentes tiempos de precocido.

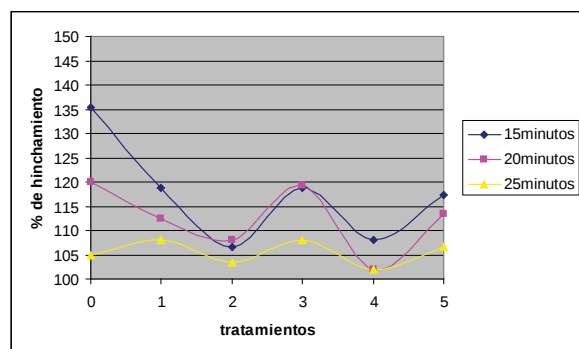
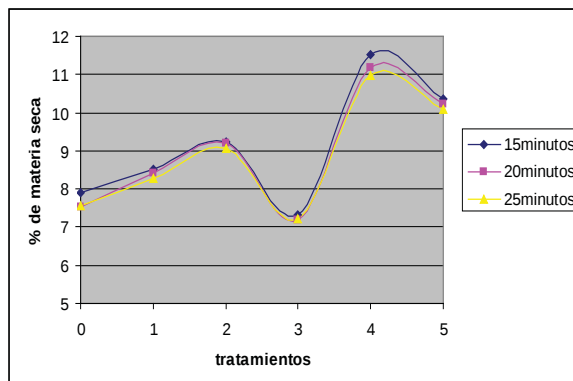


Figura 5 Fideos obtenidos a partir de diferentes mezclas farináceas vs. Porcentaje de materia seca, a tres diferentes tiempos de precocido.



Elaborado por: Ricardo Martínez C, 2011

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE ENZIMAS (gluco-oxidasas, hemicelulasas) Y EMULSIFICANTE (estearil lactilato de sodio) EN LA CALIDAD DE PAN ELABORADO CON SUSTITUCIÓN PARCIAL DE HARINA DE TRIGO NACIONAL (*Triticum vulgare*) VARIEDAD COJITAMBO

EVALUATION OF ENZYME EFFECT (gluco-oxidasas, hemicelulasas) AND EMULSIFIERS (estearil lactilato de sodio) IN THE BREAD QUALITY DONE WITH PARTIAL SUSTITUTION OF NATIONAL WHEAT FLOUR (*Triticum vulgare*) COJITAMBO VARIETY

**Toaquiza Angélica, Lascano Alexandra, Ortiz Jacqueline,
Álvarez Mario, Sandoval Galo (†)**

Universidad Técnica de Ambato (UTA)
Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos (FCIAL)
Unidad Operativa de Investigación en Tecnología de Alimentos (UOITA)
Ciudadela Huachi, Casilla 18-01-0334. E-mail: fcial@uta.edu.ec
AMBATO-ECUADOR

RESUMEN

Se realizó un estudio del efecto de diferentes concentraciones de enzimas (gluco-oxidasa y hemicelulasa) y aditivos (estearil lactilato de sodio) en una mezcla de 40% harina de trigo importado y 60% de harina de trigo nacional destinadas para la elaboración de pan. Esta investigación pretende contribuir a la disminución del nivel de importación del trigo mediante la sustitución parcial del mismo por trigo nacional. Se efectuaron análisis farinográficos, alveográficos y en el Mixolab para caracterizar el comportamiento reológico de las masas, determinando que el mejor tratamiento con $p=0.5$ corresponde al tratamiento T_4 : 40 ppm de hemicelulosa, 100 ppm de glucosa-oxidasa, 100 ppm de estearil lactilato de sodio, 40ppm azodicarbonamida y 80ppm de ácido ascórbico, presenta características reológicas similares a la harina de trigo importado y adecuadas para la elaboración de pan, basándose en la buena estabilidad que posee la masa. Se concluye que el pan elaborado del mejor tratamiento presentó características físicas y sensoriales similares al pan elaborado con trigo importado 100%.

Palabras Clave: enzimas, emulsificante, pan, sustitución parcial, trigo nacional

SUMMARY

This is the study of the effect of different concentrations of enzymes (gluco-oxidase and hemicellulose) and additives (sodium stearoyl lactate) in a mixture of 40% imported wheat flour and 60% national wheat flour for making bread. This research pretends to contribute to the reduction of the wheat importation through the partial substitution by national wheat. Farinographic and alveographic analysis as well as Mixolab trials were done in order to characterize the rheological behavior of the dough, determining that the best treatment with $p=0.5$ corresponds to T_4 : 40 ppm of hemicellulose, 100 ppm of glucose-oxidase, 100 ppm of sodium stearoyl lactate, 40 ppm of azodicarbonamide and 80 ppm of ascorbic acid, showing similar rheological characteristics than the imported wheat flour adequate for bread making, based on the good stability of the dough. The conclusion was the bread made with the best treatment showed similar physical and sensorial characteristics than the one made with 100% imported wheat.

Key words: enzymes, emulsifiers, bread, partial substitution, national wheat.

INTRODUCCIÓN

Las harinas de trigo deben reunir dos propiedades fundamentales: las cualidades fermentativas y sus cualidades plásticas. Las primeras se refieren a la capacidad amilásica que debe poseer una harina y que modernamente se cuantifica por el número de caída o

falling number; mientras que las cualidades plásticas están ligadas a la reología de la masa y se cuantifican mediante extensografía, farinografía y mixolab; métodos que se emplean para estudiar la calidad de harinas. [Rollin, E. 1962]

El Texturómetro es un equipo que permite someter una muestra a las fuerzas controladas en la compresión

utilizando una sonda, o en tensión con los apretones

Las harinas que presentan corto tiempo de desarrollo y larga estabilidad producen masas pequeñas; cuando son mezcladas con otras de trigos fuertes proporcionan más elasticidad y flexibilidad a las masas. Harinas de trigos fuertes que presentan largos tiempos de desarrollo y por otro lado, los principios fundamentales de la tecnología de la panificación son simples: la masa formada de harina, agua, sal y levadura es amasada convenientemente y luego dejada en reposo para que fermente, los gases de la fermentación permanecen aprisionados a causa de la materia elástica de la harina: el gluten.

Estabilidad de masa, son muy útiles para propósitos de mezclado, debido a que mejoran la fuerza y tiempo de mezclado en trigos débiles. [Shuey, 1967].

Por último, esta masa viscoelástica y esponjosa a la vez, a la que se da la forma definitiva de los panes, es puesta al horno a cocer. [Cauvain, S. 1996]

Así, Kent [1987] observó la capacidad de mantener buen volumen y buena estructura de miga del pan, cuando mezcló harinas fuertes con ciertas proporciones de harinas flojas. Birch y Finney [1980] mencionan que el potencial panadero está relacionado en gran manera con la calidad y cantidad de proteína en el trigo; pero muchos agentes mejoradores incrementan el volumen del pan y desarrollan el grano de la miga, si se formulan adecuadamente.

El propósito de esta investigación es evaluar el efecto de las enzimas glucosa oxidasa, hemicelulasa y el emulsificante estearil lactilato de sodio en la calidad del pan elaborado con sustitución parcial harina de trigo nacional

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima: Harina de trigo importado variedad Canada Wheat Red Spring (CWRS # 1) y Harina de trigo nacional variedad Cojitambo.

Mejoradores: Hemicelulasa, Glucosa oxidasa, Estearil lactilato de sodio, Azodicarbonamida y Ácido ascórbico

Equipos: Farinógrafo BRABENDER, Mixolab CHOPIN, Alveógrafo CHOPIN, Texturómetro BROOKFIELD

Método: *Farinografía:* Manual de funcionamiento del equipo BRABENDER, acorde al método ICC-Standard

Nº155. *Mixolab:* Manual de funcionamiento del equipo Chopin acorde a la norma ICC-Standard Nº173.

Alveógrafo: Manual de funcionamiento del equipo Chopin acorde a la norma ICCNº121.

Texturómetro: Manual de funcionamiento del equipo Texture Analyzer CT3. No. M/08-371A0708

Análisis sensorial: Caracterización del pan mediante sus atributos como: sabor, color de la corteza, textura, apariencia y aceptabilidad en una escala sobre cinco puntos, evaluando similitud entre el pan 100% trigo importado con el mejor tratamiento. [Norma INEN 530]

Análisis Microbiológico: método microbiológico de análisis de aerobios mesófilos, mohos - levaduras y coliformes totales.

En cuanto a los análisis estadísticos se utilizó Statgraphics Plus 4.0. Se realizaron Análisis de Varianza (ANOVA) y si existe diferencia significativa entre los tratamientos se aplicó la Prueba de Duncan.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo a la Tabla 1 se puede observar que no existe diferencia significativa en los parámetros: índice de tolerancia y tiempo de desarrollo, mientras que en la estabilidad si existe diferencia significativa, se observa en el tratamiento 4 ($a_0b_1c_1$: 40ppm hemicelulasa + 100 ppm gluco-oxidasa +100 ppm estearil lactilato de sodio + 30 ppm ADAMIX + 80 ppm Ac. Ascórbico) correspondiente a mezcla de harina con 40% trigo importado mas 60% trigo nacional, presenta buenos resultados de estabilidad, por ello se considera como una harina panadera debido a que presenta una buena estabilidad.

Selección del mejor tratamiento

De acuerdo a los resultados se consideró al tratamiento 4 ($a_0b_1c_1$: 40ppm hemicelulasa + 100 ppm gluco-oxidasa +100 ppm estearil lactilato de sodio + 30 ppm ADAMIX + 80 ppm Ac. Ascórbico) como una harina panadera debido a que presenta una buena estabilidad. Las harinas más estables suelen ser más fuertes y por ende aptas para panificación. [Calaveras J., 1996]

La selección del mejor tratamiento se realizó tomando en consideración la muestra con características similares a la harina de trigo importado o mejoren la muestra que no tiene aditivos químicos

En la Tabla 1 se muestra los resultados de los farinogramas obtenidos en cada tratamiento.

TABLA 1: Resultados de los farinógramas de los diferentes tratamientos

MUESTRA	Humedad	Absorción de agua	Tiempo de desarrollo	Estabilidad	Índice de tolerancia
	%	%	(minutos)	(minutos)	(UB)
a0b0c0	12,9	68,35	2,5 ^a	8,5 ^{ab}	28,5 ^a
a0b0c1	12,7	68,8	2,7 ^a	8,1 ^{ab}	31,0 ^a
a0b1c0	12,7	68,6	3,0 ^a	7,4 ^b	37,5 ^a
a0b1c1	12,5	68,4	3,0 ^a	9,1 ^a	27,5 ^a
a1b0c0	12,6	68,7	2,65 ^a	7,6 ^b	39,5 ^a
a1b0c1	12,9	68,8	2,95 ^a	8,1 ^{ab}	33,0 ^a
a1b1c0	12,7	68,6	2,25 ^a	8,6 ^{ab}	16,5 ^a
a1b1c1	12,7	69,2	2,6 ^a	8,4 ^{ab}	26,5 ^a

Valores diferentes de a indica diferencia significativa ($\alpha=0,05$)

Análisis Farinográfico:

De acuerdo a la Tabla 2, se muestran los resultados farinográficos de la muestra de trigo importado 100%, mejor tratamiento y la muestra de mezcla de harinas sin mejoradores, analizando los resultados mediante comparaciones.

TABLA 2: Resultados de los farinogramas de las muestras: trigo importado, mejor tratamiento y mezcla de harinas sin mejoradores.

MUESTRA	Absorción de agua	Tiempo de desarrollo	Estabilidad	Índice de tolerancia
	%	(minutos)	(minutos)	(UB)
Trigo Importado 100%	66	4,5	7,5	70
Mejor Tratamiento a0b1c1	68,4	4,53	9,1	27,5
Mezcla de harinas sin mejoradores	68,4	3	4,5	75

TRIGO IMPORTADO: Harina de trigo Miraflores Comercial.

MEJOR TRATAMIENTO: 40% harina de trigo importado+60%harina de trigo nacional aditivado (40ppm hemicelulasas, 100 ppm glucosa oxidasa, 100ppm esteaoril lactilato de sodio, 30 ppm azodicarbonamida, 80 ppm acido ascórbico).

MEZCLA DE HARINAS: 40% harina de trigo importado+60%harina de trigo nacional sin mejoradores.

Los ensayos reológicos son considerados como las pruebas críticas para determinar importantes parámetros de procesamiento, absorción de agua, tiempo de amasado, estabilidad de la masa y hasta para predecir la calidad del producto terminado. [Pratt, D. B. 1964]

La muestra del mejor tratamiento presenta características reológicas adecuadas para la elaboración de pan, en referencia a los resultados.

En tanto al valor de estabilidad, la muestra del mejor tratamiento presenta un valor superior (9,1 min) en comparación a las muestras restantes, determinando que la mezcla de harina corresponde a una calidad buena según el rango de no inferior ha 7 minutos. [Pantaneli, A. 1996]

Enzimas como las hemicelulasas permiten la desintegración de la hemicelulosa para brindar mayor estabilidad a la masa durante la fermentación, la glucosa oxidasa cataliza la oxidación de la glucosa a ácido glucónico y peróxido de hidrógeno, favoreciendo la oxidación de las proteínas, aumentando la tenacidad del gluten y reduciendo su extensibilidad. [Tejero F. 2005]

Análisis en el Mixolab.

A continuación en el siguiente gráfico se presenta los resultados obtenidos de los parámetros reológicos que indica el equipo Mixolab system en tres muestras diferentes.

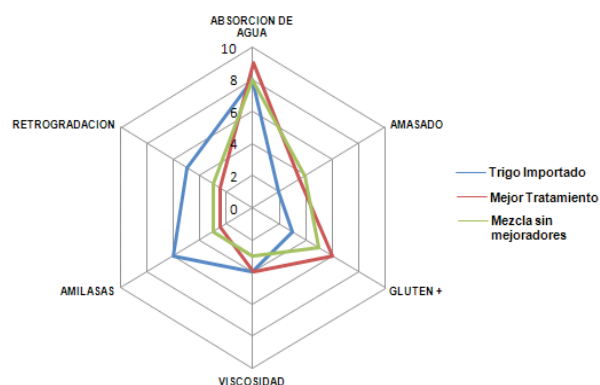


GRAFICO 1. Resultados de las graficas del Mixolab de las muestras: trigo importado, mejor tratamiento y mezcla de harinas sin mejoradores

En la gráfica 1 se muestra una comparación entre el mejor tratamiento (a0b1c1) seleccionado de acuerdo a los resultados farinográficos, harina de trigo importado y la muestra de mezclas de harinas sin mejoradores. Se puede observar que el mejor tratamiento posee mayor porcentaje de absorción de agua debido a la adición de hemicelulasas por la producción de pentosanos, además del almidón dañado que posee la mezcla [Calaveras, J. 1996]. Asimismo, este tratamiento (mejor tratamiento a0b1c1) presenta un tiempo de amasado intermedio entre las dos muestras (trigo importado, muestra mezcla de harinas sin mejoradores), por lo que entre mayor sea el tiempo de amasado la fuerza de gluten será mayor o viceversa, por ello los resultados similares.

En lo referente a la viscosidad y amilasas entre más fuerte es el índice de amilasa más fuerte es la viscosidad (actividad amilásica menos fuerte) proporcionando a la muestra denominada como mejor tratamiento, una consistencia adecuada de la masa, efecto dado por las enzimas glucosa oxidasa y mejorantes ácido ascórbico, azodicarbonamida, ya que en conjunto dan como resultado una masa adecuada para fines panarios. [Cauvain, S. 1996]

Análisis Alveográfico.

Los resultados que presenta la Tabla 3 fueron obtenidos de los alveogramas realizado para la muestra de harina de trigo importado y mejor tratamiento (40 ppm de hemicelulasas, 100 ppm glucosa oxidasa, 100 ppm esteaoril lactilato de sodio, 30 ppm azodicarbonamida y 80 ppm ácido ascórbico), tomando en cuenta los parámetros con mayor relevancia del análisis alveográficos como: tenacidad, extensibilidad, equilibrio y fuerza de la masa.

TABLA 3: Resultados de los alveogramas realizados la muestra de harina de trigo importado y mejor tratamiento.

CARACTERISTICAS	Trigo Importado	Mejor Tratamiento (a0b1c1)
Tenacidad (P)	120	157
Extensibilidad (L)	70	28
Equilibrio (P/L)	1,71	5,61
Fuerza (W)	311	192

TRIGO IMPORTADO: Harina de trigo Miraflores Comercial.

MEJOR TRATAMIENTO: 40% harina de trigo importado+60%harina de trigo nacional aditivado (40ppm hemicelulasas, 100 ppm glucosa oxidasa, 100ppm esteaoril lactilato de sodio, 30 ppm azodicarbonamida, 80 ppm ácido ascórbico).

Una harina es considerada buena para panificación si tiene una fuerza (W) entre 140 y 160, y una relación equilibrio (P/L) entre 0,5 y 0,6. Para productos

fermentados se debe utilizar harinas fuertes con una fuerza (W) entre 180 y 200 [Pantanelli, A. 1996]. La muestra de trigo importado tiene una fuerza (W) de 311, mientras que la muestra del mejor tratamiento tiene una fuerza (W) de 192 es decir está dentro de los parámetros que establece [Pantanelli A., 1996] por lo que puede considerarse a la harina del mejor tratamiento como una harina apta para panificación.

En la Tabla 3 se indica que la harina de trigo importado presenta un valor de equilibrio (P/L) de 1,71; en cambio para el mejor tratamiento posee un valor de 5,61; siendo esta última una harina tenaz, ya que valores de P/L superiores a 1 dan como resultado una harina muy tenaz, por lo que resultará una masa difícil de trabajar y a encogerse después de formado de las piezas de pan. La excesiva tenacidad de la masa dificulta la expansión de los gases, primero durante la fermentación de los panes y después de la cocción, lo que va a repercutir en el desarrollo de la masa. [Calaveras, J. 1996]

Caracterización de pan

En la Tabla 4 se muestra la caracterización del pan correspondiente a valores de peso, volumen, diámetro y altura de la muestra de trigo importado 100%, mejor tratamiento y la muestra de mezcla de harinas sin mejoradores.

TABLA 4: Caracterización del pan elaborado con trigo importado, mejor tratamiento y la mezcla de harinas sin mejoradores.

TRATAMIENTOS	PESO (gramos)	VOLUMEN (cm ³)	DIAMETRO (cm)	ALTURA (cm)
TRIGO IMPORTADO	36,9 ^a	209,3 ^a	8,0 ^a	4,7 ^a
MEJOR TRATAMIENTO	36,4 ^a	216,0 ^a	8,2 ^a	4,8 ^a
MEZCLA DE HARINAS SIN MEJORADORES	36,6 ^a	182,5 ^a	7,9 ^a	4,5 ^a

Valores con letras distintas indican diferencias significativas según prueba de rango múltiple de Duncan ($P \leq 0,05$).

TRIGO IMPORTADO: Harina de trigo Miraflores Comercial.

MEJOR TRATAMIENTO: 40% harina de trigo importado+60%harina de trigo nacional aditivado (40ppm hemicelulasas, 100 ppm glucosa oxidasa, 100ppm esteaoril lactilato de sodio, 30 ppm azodicarbonamida, 80 ppm ácido ascórbico).

MUESTRA DE MEZCLA DE HARINA: 40% harina de trigo importado+60%harina de trigo nacional sin mejoradores

En la Tabla 4 se muestran los valores de los promedios de 10 panes tanto de peso, volumen, diámetro y altura de tres muestras de pan con trigo importado, 60% trigo nacional+40% trigo importado y el mejor tratamiento que contiene 60% trigo nacional + 40% trigo importado + mejoradores. De acuerdo al análisis estadístico

(ANOVA) y la prueba de diferenciación Duncan se pudo determinar que no existe diferencia significativa entre las tres muestras en cada parámetro (diámetro, altura, peso y volumen).

Análisis Sensorial

En la Tabla 5 se presenta los promedios de los resultados obtenidos de la valoración de cada atributo: apariencia, color, sabor, textura y aceptabilidad de las muestras de pan elaborado con: trigo importado “Miraflores Comercial” y mejor tratamiento (40% trigo importado + 60% trigo nacional con mejoradores), de acuerdo a la Norma INEN 530.

TABLA 5: Promedios de los resultados de los atributos de las muestras de pan 100% trigo importado y mejor tratamiento.

ATRIBUTO	TRIGO IMPORTADO	MEJOR TRATAMIENTO
	VALORACION: Puntos/ 5 Puntos	
Apariencia	4.23 ^a	3.78 ^b
Color de la Corteza	3.12 ^a	2.75 ^b
Sabor	4.12 ^a	3.82 ^a
Textura	3.36 ^a	3.26 ^a
Aceptabilidad	4.35 ^a	4.10 ^a

Valores con letras distintas indican diferencias significativas según prueba de rango múltiple de Duncan ($P \leq 0,05$).

TRIGO IMPORTADO: Harina de trigo Miraflores Comercial.

MEJOR TRATAMIENTO: 40% harina de trigo importado+60%harina de trigo nacional aditivado (40ppm hemicelulasas, 100 ppm glucosa oxidasa, 100ppm esteaoril lactilato de sodio, 30 ppm azodicarbonamida, 80 ppm acido ascórbico).

Los resultados sensoriales entre las dos muestras de pan no presentaron diferencia significativa en los atributos de sabor (agrada), textura (ni suave ni dura) y aceptabilidad (agrada), es decir los catadores no encontraron diferencia entre las dos muestras, mientras que los atributos apariencia y color de la corteza presentaron diferencia significativa. Por ello el empleo de alfa amilasas en la mezcla de harinas y en el proceso de panificación depende el resultado de un pan con una miga esponjosa y una corteza rojiza. [Miranda, R. 2004].

Para la determinación de los atributos del pan se seleccionó a 50 catadores no entrenados, las cataciones se realizó por duplicado.

Análisis en el Texturómetro

Se empleo el texturómetro (texture analyzer CT3) para determinar los cambios de textura entre las dos muestras de pan (trigo importado y mejor tratamiento)

almacenado en condiciones adecuadas.

TABLA 6: Cambios de textura en las muestras de pan de trigo importado y mejor tratamiento.

ANÁLISIS		Dureza (g)	Trabajo Dureza Terminado (mJ)	Deformación Recuperable (mm)
PAN DE TRIGO IMPORTADO	Día 1 (24horas)	894,5 ^a	46,3 ^a	6,5 ^a
	Día 2 (48horas)	1099 ^a	52,4 ^a	7,2 ^a
	Día 3 (72horas)	1324,5 ^a	64,7 ^a	5,6 ^a
PAN MEJOR TRATAMIENTO	Día 1 (24horas)	712,5 ^a	39,3 ^a	7,1 ^a
	Día 2 (48horas)	1015,5 ^a	55,7 ^a	5,7 ^a
	Día 3 (72horas)	1021 ^a	48,3 ^a	5,1 ^a

Valores con letras distintas indican diferencias significativas según prueba de rango múltiple de Duncan ($P \leq 0,05$).

TRIGO IMPORTADO: Harina de trigo Miraflores Comercial.

MEJOR TRATAMIENTO: 40% harina de trigo importado+60%harina de trigo nacional aditivado (40ppm hemicelulasas, 100 ppm glucosa oxidasa, 100ppm esteaoril lactilato de sodio, 30 ppm azodicarbonamida, 80 ppm acido ascórbico).

En cuanto a la Tabla 6, se observa que la textura del pan del mejor tratamiento conforme transcurre el tiempo de almacenamiento tarda menos en perder sus cualidad de suavidad y esponjosidad tanto en la miga como en la corteza del pan, esto en comparación a la muestra del pan de trigo importado; cabe señalar que la muestra de pan del mejor tratamiento contiene un kit enzimático, dentro del cual contiene esteaoril lactilato de sodio el cual mejora la retención del gas en la masa, proporciona una extensión de la vida útil del producto en términos de blandura, es capaz de unirse con la amilosa de forma similar como o hacen los monoglicéridos destilados, lo que contribuye a su efecto como ablandador de la miga. [Cauvain, S. 1996]

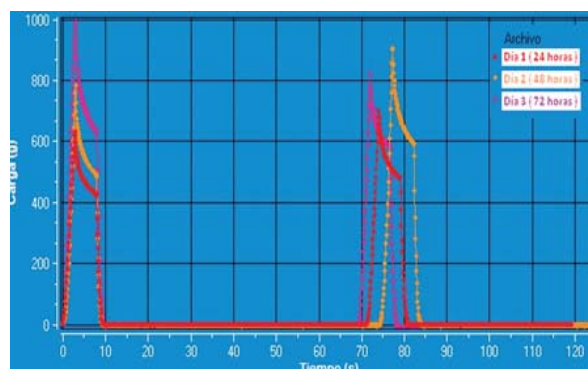


GRÁFICO 2. Fuerza vs. Tiempo en pan trigo importado (100% trigo Miraflores comercial).

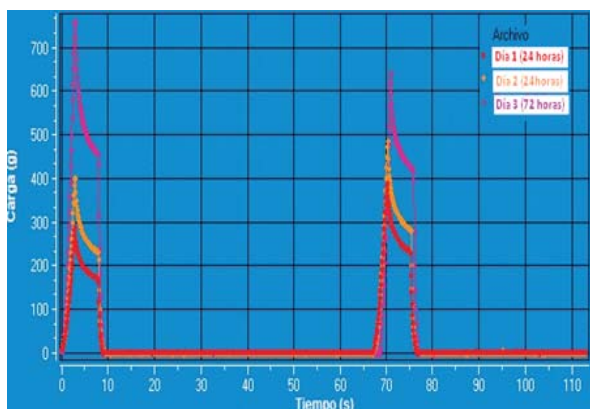


GRÁFICO 3. Fuerza vs. Tiempo en pan mejor tratamiento (40% trigo importado+60% trigo nacional con mejoradores).

El gráfico 2 se muestra la fuerza controlada en la compresión utilizando una sonda, sobre la muestra de pan del mejor tratamiento en un tiempo total de tres días (análisis cada día). Mientras que la gráfica 3 presenta el mismo resultado pero en la muestra de pan de trigo importado (Miraflores comercial).

Análisis microbiológico

Para el respectivo recuento microbiológico se utilizó 10 gr de la muestra del pan del mejor tratamiento, disueltos en 90 ml de agua peptonada, se sembraron en cajas petri sobre un medio de agar, se incubaron a una temperatura de 30 °C por 48 horas y posteriormente se contaron todas las colonias visibles mediante un contador Quebec.

Para la determinación del contenido microbiano del pan elaborado, comparando con los valores que presenta Calaveras J., (1996) y la Norma INEN 616, como límite máximo, los resultados que se obtuvieron del pan se halla dentro de los límites permitidos de bacterias, hongos y levaduras, como para coliformes, ya que los límites son de 100.000, 500 y 0 UFC/g respectivamente.

Cabe señalar que el pan se lo somete a cocción a una temperatura de 180-200 °C en un lapso de tiempo de 25 minutos, es decir el tiempo y temperatura necesaria para que se destruya todo tipo de microorganismo, por tanto el análisis microbiológico presenta valores de cero de UFC/g tanto para recuento de mesófilos totales, hongos-levaduras y coliformes totales; por ello la contaminación se da por origen exógeno es decir se sumaron posteriormente al proceso, a partir del ambiente o el transporte.

CONCLUSIONES

Se evaluó el efecto en la calidad del pan mediante el uso de enzimas como, hemicelulasa (40-60 ppm), glucosa-oxidasa (80-100ppm) y el emulgente esteaoril lactilato de sodio (50-100ppm), determinando las concentraciones adecuadas de cada enzima y el emulgente para la obtención de una mezcla de harinas

(trigo importado 40% (p/p) con harina de trigo nacional variedad Cojitambo 60% (p/p) mas mejoradores) panadera, para ello se analizó las muestras con los equipos como el farinógrafo, alveógrafo, mixolab y texturómetro en 8 mezclas de harinas.

Se determinó la concentración adecuada de enzimas y emulsificante aplicando el diseño estadístico AxBxC y se estableció de 8 tratamientos como mejor tratamiento al a0b1c1 que contiene 40 ppm de hemicelulasa, 100 ppm de glucosa-oxidasa, 100 ppm de esteaoril lactilato de sodio 30 ppm de azodicarbonamida y 80 ppm de ácido ascórbico, de acuerdo al análisis estadístico experimental

Se evaluó la aceptabilidad del pan elaborado a partir de la mezcla del mejor tratamiento entre la muestra de harina de trigo importado 100% mediante un análisis sensorial, teniendo en cuenta los atributos como: apariencia del pan en la cual se encontró diferencia significativa, obteniéndose una apariencia de “regular a buena”, el color de la corteza del pan se presentó con un color “pálido a dorado” debido a que presenta diferencia significativa; en lo referente al sabor no existió diferencia significativa determinándolos como “agrada”, textura no existió diferencia significativa denominándolos como “ni dura ni suave”; en general, la aceptabilidad del pan fue calificada en términos que “agrada”.

El contenido de minerales en el pan del mejor tratamiento fue considerable puesto que posee fósforo (0.38%), magnesio (0.04%), potasio (0.22%), sodio (0.74%), cobre (6 ppm) y zinc (41 ppm) en comparación al pan de la muestra de trigo importado. De acuerdo al análisis proximal este presentó mayor cantidad de cenizas (2,35%), fibra (1,87%) y grasa (13,3%). El análisis del contenido de aminoácidos muestra un contenido amplio del aminoácido leucina y fenilalanina + tirosina, este contenido satisface los requerimientos que establece el Institute of Medicine, National Academy of Science. El pan resultó con déficit del aminoácido esencial, lisina y como aminoácidos deficitarios, treonina y triptófano. Sin embargo, el consumo de pan junto con otros alimentos, especialmente lácteos, carnes, pescados, huevos, mejora la calidad del pan, anulando la limitación en la calidad protéica, que mantiene el pan al consumirlo aislado.

El costo de producción del pan, del mejor tratamiento es de 0.05 centavos por pieza de pan. Lo que implicó que la utilidad es muy significativa considerando que el gobierno impuso un precio de 0.12 centavos al consumidor final. De esta manera se podrá introducir el producto al mercado con facilidad por su costo y por ende se podrá promocionar el uso del trigo nacional y por ende, incentivar la producción nacional del cereal disminuyendo la importación del trigo para

la elaboración de uno de los productos de consumo masivo como es el pan.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Técnica de Ambato-Ecuador, a la Unidad Operativa de Investigación en Tecnología de Alimentos y a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos por el financiamiento y soporte para la realización del trabajo, a través del proyecto “Desarrollo de mezclas farináceas de cereales (maíz, quinua y cebada) y papas ecuatorianas como sustitutos parciales del trigo importado para la elaboración de pan y fideos”.

REFERENCIAS

BIRCH, R. y P. Finney. 1980. Note on fresh egg yolk in whole wheat-bread. *Cereal chemistry* 57. 405p.
BROOKFIELD CT3 TEXTURE ANALYZER Operating Instructions Manual No. M/08-371A0708. 1-15p.
CALAVERAS, J. 1996. “Tratado de panificación y bollería” Primera Edición, Editorial ENESA, Madrid España. 46-65, 256-385p.
CAUVAIN, S., YOUNG, L. 1998. “Fabricación del pan” Editorial Acribia. Zaragoza-España. 60-78, 330-375p.
KENT, N. L., 1987. “Tecnología de los cereales.

Introducción para estudiantes de ciencia de los alimentos y agricultura“. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza. 171-339p.

MIRANDA, Rafael. 2004. “ACTIVIDAD DE LAS AMILASAS EN PANIFICACIÓN” obtenido de <http://www.alfa-editores.com/alimentaria/NovDic%2004/TECNOLOGIA%20Amilasas%20en%20Panificac%20.pdf>

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA. INEN 530. Harina de Trigo Ensayo de Panificación. NORMA TÉCNICA ECUATORIANA. INEN 616. Harina de Trigo Requisitos.

PANTANELLI, A. 1996. Parámetros Industriales de la Calidad del Trigo”. Obtenido on line: http://www.aaprotrigo.org/calidad%20panadera/parametros_industriales_calidad_trigo.htm

PRATT, D. B. 1964. “Criteria of flour quality. Wheat (Chemistry and Technology)”. Ed. I. Hlynka, Minnesota. Tomo III. 227-276p.

ROLLIN, E. 1962. “Tratado de Panadería y Pastelería” Editorial Sintés, Barcelona España. 28-31, 420-425, 680-685p

SHUEY, W. 1967. Handbook of Farinograph. Grain Research Laboratory. Winnipeg – Canadá. 15-56p.

TEJERO, F. 2005. “Las Enzimas en los nuevos procesos de Panificación”. Obtenido on line en <http://www.franciscotejero.com/tecnica/mejorantes/ENZIMA.pdf>

ESTUDIO DEL EFECTO DE MEJORADORES DE HARINA EN EL DESARROLLO DE MASAS PARA LA ELABORACIÓN DE PASTAS CON SUSTITUCIÓN PARCIAL DE HARINAS DE QUINUA (*Chenopodium quinoa*) Y PAPA (*Solanum tuberosum*)

STUDY OF THE EFFECT OF FLOUR IMPROVERS IN THE DEVELOPMENT OF DOUGHS FOR PASTE ELABORATION WITH PARTIAL SUBSTITUTION OF QUINUA (*Chenopodium quinoa*) AND POTATO (*Solanum tuberosum*) FLOURS

Pazuña Mercedes¹, Brito Susana¹, Álvarez Mario¹, Sandoval Galo¹ (†), Garcés Lenín²

UNIVERSIDAD TECNICA DE AMBATO (UTA).

²FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS (FCIAL).

¹UNIDAD OPERATIVA DE INVESTIGACIÓN EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS (UOITA)

Ciudadela Huachi, Casilla 18-01-0334. E-mail: fcial@uta.edu.ec
AMBATO-ECUADOR

RESUMEN

La pasta alimenticia es un producto de consumo masivo, considerado como un alimento funcional por su bajo aporte de grasa, sodio y baja respuesta glicémica. El trigo es el cereal más adecuado para la elaboración de pastas; sin embargo, por su alto costo y contenido nutricional, se consideró sustituirlo con harinas nacionales como: harina de papa y harina de quinua. Las mezclas de trabajo fueron las siguientes: harina de papa 20% con harina de trigo 80% y harina de quinua 30% con harina de trigo 70%. En las mezclas se observó que las propiedades de la harina son modificadas, de manera especial en lo referente al gluten; con lo que se vio afectada directamente la estabilidad y extensibilidad, características significativas en el desarrollo de masas para la elaboración de pastas alimenticias. Con la adición de mejoradores de harina tales como: Glucosa oxidasa, Ácido ascórbico, Emulsificante (Estearil Lactilato de Sodio), Lipasa (Granozyme lipo 10), Goma Xanthan, Peróxido de Benzoilo; se logró reducir el efecto de la modificación presentada en las mezclas. Se realizaron cuatro formulaciones, con sus respectivas combinaciones; lo que determinó que la formulación que contiene Glucosa oxidasa 150ppm, Ácido ascórbico 100ppm, Emulsificante 250ppm (Estearil Lactilato de Sodio), Lipasa 200ppm (Granozyme lipo 10), Goma Xanthan 100ppm, Peróxido de Benzoilo 140ppm, tanto en la mezcla que contiene harina de quinua, como para la mezcla que contiene harina de papa permitió obtener una pasta con características físicas y químicas aceptables.

Palabras Claves: Pastas alimenticias, mejoradores de harina, harina de papa, harina de quinua, análisis farinográficos, evaluación de pastas.

SUMMARY

Food pasta is a massive consumption product, considered as a functional food for its low fat and sodium input and low glycemic response. Wheat is the most adequate cereal for pasta production; however, for its high price and nutritional content, it was considered to substitute it by national flours as: potato flour and quinoa flour. The chosen mixtures were: potato flour 20% with wheat flour 80% and quinoa flour 30% with wheat flour 70%. In the mixtures it was observed that the flour properties were modified, in a special way referring the gluten: affecting directly the stability and extensibility, significant characteristics for the development of the dough for food pasta production. With the addition of flour improvers such as: glucose oxidase, ascorbic acid, emulsifier (sodium stearoyl lactate), lipase (Granozyme lipo 10), xanthan gum, benzoyl peroxide, it was achieved the reduction of the effect due to mixture modification. Four formulations were done, with its respectively combinations; determining the best formulation for the mixture containing quinoa as well as for the mixture containing potato, corresponds to: glucose oxidase 150 ppm, ascorbic acid 100 ppm, emulsifier 250 ppm (sodium stearoyl lactate), lipase 200 ppm (Granozyme lipo 10), xanthan gum 100 ppm, benzoyl peroxide 140 ppm.

Key words: food pasta, flour improvers, potato flour, quinoa flour, farinographic analysis, pasta making.

INTRODUCCIÓN

Antognelli, C. (1980), establece que la pasta de trigo es un alimento nutricionalmente no balanceado, debido a su escaso contenido de grasa y fibra dietética, y al bajo valor biológico de su proteína, originado por las deficiencias de lisina. Cuando se consume enriquecida con huevo o en combinación con carne, se incrementa su valor nutricional, pero también su costo. Sin embargo, se podría incrementar el valor nutricional de este alimento al mezclar la sémola de trigo con subproductos industriales como el germen desgrasado de maíz o con leguminosas como *Vigna sinensis*, comúnmente conocida como frijol; ambos ricos en lisina.

En el presente trabajo se sustituirá un porcentaje de harina de trigo importado por harina de quinua y papa agregando mejoradores de harina: la enzima glucosa oxidasa y lipasa, emulsificante (Esteaoril lactilato de sodio), Goma Xanthan y Peróxido de Benzoilo, para optimizar el desarrollo de masas en la elaboración de pastas, que se basó fundamentalmente en reforzar el gluten, relajar la estructura de la masa, mejorar el trizado o asado durante la cocción, estandarizar el color, incrementar el contenido proteico principalmente procurar el enriquecimiento de las mismas.

El propósito de esta investigación es determinar los efectos de los mejoradores de harina en las mezclas con sustitución parcial de harina de papa y quinua.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima: Harina de trigo importado Canadian Wheat Red Spring #1 Harina de Cereal y Tubérculo Nacional: Quinua Tunkahuan, Papa Gabriela

Mejoradores: Glucosa oxidasa, Lipasa, Esteaoril lactilato de sodio, Ácido ascórbico, Goma Xanthan, Peróxido de Benzoilo.

Equipos: Farinógrafo BRABENDER.

Método: *Farinografía*: Manual de funcionamiento del equipo BRABENDER, acorde al método ICC-Standard N°155.

Análisis Sensorial: Caracterización de las pastas mediante sus atributos como: olor, color, sabor, apelmazamiento, textura y aceptabilidad en una escala no estructurada de 15cm evaluando las diferencias y semejanzas con referencia a la pasta elaborada con harina de trigo 100%.

Análisis microbiológico: método microbiológico de análisis de aerobios Mesófilos, mohos- levaduras y Coliformes totales.

En cuanto, a los análisis estadísticos se utilizó Statgraphics Plus 4.0. Se realizaron análisis de Varianza (ANOVA) y si existía diferencia significativa se aplicó la Prueba de Duncan para el caso de los atributos

sensoriales mientras que, para las otras determinaciones se utilizó la prueba de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 1 “Formulaciones”

Formulaciones	Porcentaje de Sustitución de harina	Mejoradores	Ppm
F1	20% HP y 80% TI 30% HQ y 70% TI	Glucosa oxidasa Acido ascórbico Emulsificante	150 100 250
F2	20% HP y 80% TI 30% HQ y 70% TI	Glucosa oxidasa Acido ascórbico Lipasa	150 100 200
F3	20% HP y 80% TI 30% HQ y 70% TI	Glucosa oxidasa Acido ascórbico Emulsificante Lipasa	150 100 250 200
F4	20% HP y 80% TI 30% HQ y 70% TI	Glucosa oxidasa Acido ascórbico Emulsificante Lipasa Goma Xanthan Peróxido de Benzoilo	150 100 250 200 100 140

Fuente: UOITA-Proyecto PHPFF

Elaborado por: Mercedes Pazuña

HP=Harina de Papa

HQ=Harina de Quinua

TI=Harina de Trigo Importado

Tabla 2 “Análisis Farinográficos”

Mezcla de harina	Estabilidad (minutos)	Tiempo de Desarrollo (minutos)	Índice de Tolerancia (UB)	Absorción de Agua (%)
Harina de trigo Importado 100%	13,00	3,50	19,00	61,86
Harina de quinua 70% con trigo 30% sin mejoradores	4,30	3,50	70,00	66,80
Harina de papa 80% con trigo 20% sin mejoradores	2,50	3,20	140,00	72,80
F4 (Harina de quinua 70% con trigo 30%)	19,70	2,00	0,00	62,41
F4 (Harina de papa 80% con trigo 20%)	7,10	4,10	59,00	72,21

Fuente: Farinógrafo Brabender

Elaborado por: Mercedes Pazuña

F4= Glucosa oxidasa 150ppm, Ácido ascórbico 100ppm, Emulsificante 250ppm (Esteaoril Lactilato de Sodio), Lipasa 200ppm (Granozyme lipo 10), Goma Xanthan 100ppm, Peróxido de Benzoilo 140ppm.

La estabilidad

La estabilidad es el intervalo de tiempo durante el cual la masa mantiene la máxima consistencia y se mide por el tiempo que la curva se encuentra por encima de 500 unidades farinográficas. (5)

En la tabla 1 muestra que la estabilidad de la harina de trigo importado 100% es de 13 minutos tiempo

considerado como óptimo para la elaboración de pastas, caso contrario al realizar la mezcla con harina de papa baja a 2 minutos y en la mezcla con harina de quinua 4 minutos disminuyendo radicalmente la fuerza del gluten, por lo tanto al utilizar los mejoradores de harina la estabilidad llegó a 7 y 19 minutos respectivamente, comprobando que el efecto producido es positivo en dichas mezclas.

Principalmente puede deberse al emulsificante el cual optimiza la estabilidad cuando se combina con la lipasa y la glucosidasa ya que se compone de una mezcla de sales de sodio de los ácidos estearoillactílicos y sus polímeros y de pequeñas cantidades de otras sales de sodio de ácidos emparentados. De acuerdo a Wheeler, David (1999).

La diferencia de la estabilidad entre la harina de papa y quinua se debe a la cantidad de proteína con valores de 5 y 16% respectivamente (15), además los mejoradores de harina tienen un mayor efecto según el contenido de grasa en especial la lipasa como en el caso de la harina de quinua tiene 8% mientras que la harina de papa tiene 0,9%. La lipasa convierte los lípidos no polares en diglicéridos y monoglicéridos, es decir, emulsificantes quienes producen un reforzamiento de la masa y un rendimiento de volumen mayor, pero no una mejora del tiempo de caducidad según lo propuesto por Jenkins, D., (1987).

Índice de tolerancia

El índice de Tolerancia representa la resistencia de la masa al amasado y mientras más alto sea éste valor, más débil es la masa. (5)

La mezcla de harina de papa tiene un índice de tolerancia de 59UB con respecto a la mejor formulación que es la F4 (Glucosa oxidasa 150ppm, Ácido ascórbico 100ppm, Emulsificante 250ppm, Lipasa 200ppm, Goma Xanthan 100ppm, Peróxido de Benzoilo 140ppm), tomando en cuenta que la harina sin mejoradores es de 140UB lo que quiere decir que la harina es muy débil, caso contrario con la harina de trigo importado es de 19UB lo que significa que es una harina muy fuerte, de tal manera se comprueba que los mejoradores son efectivos al cambiar de 140UB a 59UB considerando que la harina de papa contiene un alto porcentaje de almidón (15), además el índice de Tolerancia de la mezcla de harina de quinua es 0UB a diferencia de la harina de trigo importado que es 19UB.

El principal efecto que produce es la glucosa-oxidasa que trabaja en la formación de los enlaces de disulfuro en la estructura del gluten. (13).

El beneficio clave de utilizar la glucosa-oxidasa es para fortalecer el gluten dándole estabilidad confiable

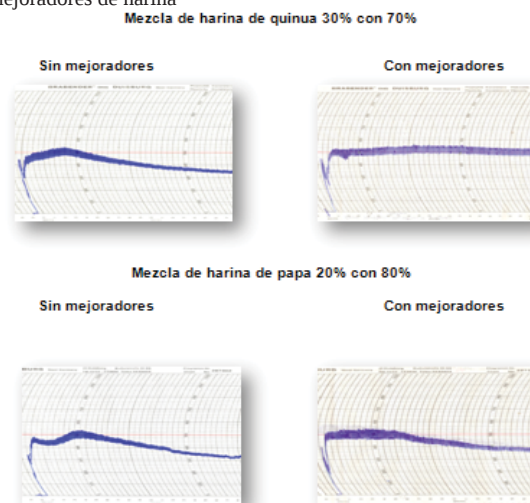
de la masa. Además la Goma Xanthan por su rigidez estructural de la molécula produce varias propiedades funcionales inusuales como estabilidad al calor, viscosidad estable en un rango amplio de temperatura, y resistencia a degradación enzimática. (16). De tal manera mejora los tiempos de laminado en la elaboración de fideos de quinua y papa.

Tiempo de desarrollo

El tiempo de llegada o tiempo de desarrollo de la masa, es el tiempo que tarda en formarse la masa y en llegar a las 500UB después de 30 segundos de haber adicionado el agua, es la velocidad con la que la harina absorbe el agua y forma el gluten. (5)

En la mezcla con harina de papa es de 4 minutos que se considera como óptimo sabiendo que contiene mayor porcentaje de almidón y un bajo porcentaje en proteína que es el gluten. (15). En cuanto a la mezcla con harina de quinua indica que el tiempo de desarrollo está entre 2 minutos estableciendo de esta manera que tiene mayor porcentaje de proteína, además conforme se combinan los mejoradores incrementan este tiempo, sin embargo no es un valor adecuado porque los valores están en un rango de 3 a 4 minutos.

Gráfico 1 “Diferencias entre las mezclas de con mejoradores y sin mejoradores de harina”



Absorción de Agua

Se analizaron 8 masas a 500 Unidades Brabender (UB), y la capacidad de absorción de agua en cada formulación varió considerablemente. En la harina de papa sin mejoradores el porcentaje es de 72,8% y en F4 72,2 %, esto puede deberse a la enzima lipasa, goma xanthan, y al emulsificante quienes tienen la capacidad de actuar directamente con el almidón llegando a tener mayor capacidad de absorción de agua.

La absorción de agua de la mezcla de harina de quinua

se debe a la influencia del emulsificante que actúa con la proteína, sabiendo que la quinua posee una cantidad considerable de proteína por lo tanto hay mayor efecto sobre la misma. La mezcla de harina de quinua sin mejoradores tiene una absorción de 66,8%, por otro lado F4 (Glucosa oxidasa 150ppm, Ácido ascórbico 100ppm, Emulsificante 250ppm (Esteoril Lactilato de Sodio), Lipasa 200ppm (Granozyme lipo 10), Goma Xanthan 100ppm, Peróxido de Benzoilo 140ppm) posee 62,4% mayor a la harina de trigo importado al 100% con 61,8%.

Entre la harina de quinua y papa existe mayor porcentaje en la harina de papa por el contenido de almidón, al mismo tiempo al ser harina precocida permite un alto porcentaje de absorción de agua (15). Esto se debe a que durante el proceso de obtención de la harina de quinua no es precocida teniendo menor capacidad hidratación y gelatinización del almidón por lo tanto es inferior que en las harinas precocidas, ya que la exposición del almidón al agua y al calor en las harinas crudas es menor.

Evaluación de Pastas

La evaluación de pastas permite determinar la calidad de las mismas elaboradas con respecto al tiempo de cocción, poder de hinchamiento, extracto seco y humedad.

Tiempo de cocción

Las pastas elaboradas con trigo 100% importado presentan menor tiempo de cocción, debido a que la amilosa presente en sus almidones se encuentra alrededor de un 25%, que beneficia la rápida gelatinización. Mientras aumenta el porcentaje de sustitución de trigo importado poseen un porcentaje de amilosa relativamente bajo, necesitan mayor tiempo de gelatinización o cocción. (15)

Por lo tanto al utilizar los mejoradores de harina el tiempo de cocción disminuye notablemente, como es el caso del fideo de papa y quinua es de 6 a 7 minutos por la acción de todos los mejoradores como es el caso de la lipasa que mejora la textura de pastas hechas con harina de trigo, ofreciendo una sensible eficiencia en la firmeza de la pasta, dándole mayor tolerancia a la cocción y reduciendo su pegajosidad. Debido a su efecto de aumentar la fuerza del gluten, la lipasa mejora la apariencia y estructura física de las pasta secas, especialmente cuando la materia prima presenta problemas en la cantidad y calidad del gluten. La lipasa también elimina el problema de “cracking” en las pastas cortas. (13)

Tabla 3 “Evaluación de pastas”

Mezclas de harinas patrones	Tiempo de Cocción (minutos)	Hinchamiento (%)	Extracto Seco (%)		Humedad (%)
			Agua de Cocción	Agua de Lavado	
Harina de Trigo 100%	7,67	125,33	8,60	1,26	12,00
Harina de quinua 70% con trigo 30% sin mejoradores	13,00	113,10	13,20	1,50	9,00
Harina de papa 80% con trigo 20% sin mejoradores	15,33	121,27	9,60	1,30	5,50
F4 (Harina de quinua 70% con trigo 30%)	6,88	144,25	8,71	1,16	7,00
F4 (Harina de papa 80% con trigo 20%)	6,24	138,44	8,47	1,01	8,90

Fuente: UOITA-Proyecto PHPFF

Elaborado por: Mercedes Pazuña

F4= Glucosa oxidasa 150ppm, Ácido ascórbico 100ppm, Emulsificante 250ppm (Esteoril Lactilato de Sodio), Lipasa 200ppm (Granozyme lipo 10), Goma Xanthan 100ppm, Peróxido de Benzoilo 140ppm.

El tiempo de cocción, influye sobre la textura y el sabor de las pastas; si las pastas no quedan bien cocidas su textura es dura y su sabor es característico de la harina y si el tiempo de cocción es mayor al requerido, se desintegran, presentan una textura muy blanda y pegajosa y su color cambia, aspectos considerados desagradables para los consumidores. (FAO)

Porcentaje de Hinchamiento

Bernardi, L., (2010), Indica que el porcentaje de hinchamiento se relaciona con la capacidad de absorción de agua de cada almidón y que los almidones/fécula nativos son insolubles en agua por debajo de su temperatura de gelatinización. Cuando estos gránulos son alentados progresivamente en agua a temperaturas más altas, se alcanza un punto donde comienza a hincharse irreversiblemente. Al hincharse, estos gránulos de almidón aumentan la viscosidad de la pasta, permitiendo saber el poder de hinchamiento de este compuesto. (15)

El porcentaje de hinchamiento con respecto al fideo de papa y quinua son mayores al trigo importado en especial el de papa con 144,25% mientras que el fideo con quinua 138% siendo valores que permiten a la pasta tener una mejor viscosidad.

Dichos valores pueden ser a la función que cumple el emulsificante quien interactúa con el almidón, modificando las temperaturas de gelatinización y la viscosidad, y al combinarse con la amilasa de la harina, teniendo mayor efecto sobre la suavidad y la conservación. Otro tipo de interacción se produce con

las proteínas; ciertos emulsionantes acentúan la red de gluten aumentando el volumen del pan y en este caso de las pastas lo cual otorga tolerancia a las masas (fabricación, máquinas) como así también a la variación de los ingredientes.

Extracto Seco

El extracto seco permite la determinación del material adherido a la pasta responsable de la pegajosidad o también la medición de la materia orgánica desprendida de la pasta.

De aquí es comprensible que en las pastas que están elaboradas a partir de la sustitución con harinas de cereales y tubérculo distintos al trigo importado, presenten mayor desprendimiento de materia orgánica, ya que a mayor presencia de almidón, las pastas van disminuyendo la capacidad de retención de su materia orgánica, producto de lo cual presentan altos porcentajes de extracto seco

Tanto para el fideo de papa y quinua presentan valores dentro de los rangos permitidos que son de 8 y 9%, en especial por el emulsificante y la goma xanthan que ayudan a mejorar la consistencia y viscosidad de las pastas.

Según Manthey F., (2004), las pérdidas de sólidos por cocción son proporcionales al porcentaje de sustitución debido a que interfieren con la formación de la matriz proteica del gluten debilitándola. Bergman C., (1996) determina que el uso bajas temperaturas para el secado de las pastas incrementa las pérdidas de los sólidos por cocción.

Lo anterior explica que las mayores pérdidas por cocción cuantificadas en las pastas enriquecidas con quinua y papa es claramente por el nivel de sustitución, No obstante, el porcentaje de pérdidas por cocción en algunas formulaciones es de 8% aspecto que es considerado como positivo si se toma en cuenta que las pérdidas por cocción de las pastas deben ser inferiores al 9%, según se lo ha planteado por Dalla M., (1996).

Porcentaje de Humedad

El porcentaje de humedad permitido es 13%, por lo que se asegura un mayor tiempo de vida útil y la seguridad de que a futuro no se presenten problemas de la presencia de mohos y acidez (% ácido láctico). En la tabla 3 se encuentran los valores determinados de la humedad de los fideos con harina de quinua y papa que tienen valores entre 7 y 9%, los cuales están dentro de los límites permitidos, tomando en cuenta que los porcentajes obtenidos no afectan durante el tiempo de cocción.

Análisis Sensorial

Se aplicó un diseño de bloques completos para el análisis sensorial, considerando como factores de estudio el color, olor, sabor, textura, apelmazamiento y aceptabilidad, de los mejores tratamientos que corresponde a la formulación cuatro (Glucosa oxidasa 150ppm, Ácido ascórbico 100ppm, Emulsificante 250ppm (Esteoril Lactilato de Sodio), Lipasa 200ppm (Granozyme lipo 10), Goma Xanthan 100ppm, Peróxido de Benzoilo 140ppm) para ambos casos, en base a los resultados obtenidos se determinó que el fideo con harina de papa tiene mayor aceptabilidad. Como se muestra en la tabla 4.

Tabla 4 “Resultados de la Prueba de Dunnet”

Olor		Color		Apelmazamiento		Textura		Sabor		Aceptabilidad	
C dunnet 1,40		C dunnet 1,21		C dunnet 1,42		C dunnet 1,02		C dunnet 1,13		C dunnet 0,98	
A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
1,85	0,47	4,58	3,78	0,75	1,47	1,63	1,97	0,19	1,59	0,12	1,47

Fuente: Statgraphics Plus 4.0

Elaborado por: Mercedes Pazuña

Fideo de Papa= **A**

Fideo de Trigo Importado=**Control**

Fideo de Quinua=**B**

Análisis Microbiológico

Se realizó el análisis microbiológico para determinar la inocuidad de los productos elaborados, en el caso de Coliformes Totales (*Escherichia coli*), se obtuvo ausencia total, mientras que en el recuento total (Aeróbios Mesófilos), mohos y levaduras comparados con la norma INEN 1375, establece una cantidad que se encuentra dentro de los parámetros establecidos. (Tabla 5).

Tabla 5 “Contenido de Ufc/g del Fideo de Papa y Quinua”

Microorganismos	Ufc/g Fideo de Papa	Ufc/g Fideo de Quinua
Aeróbios Mesófilos	$2,50 \cdot 10^3$	$2,34 \cdot 10^3$
Mohos y Levaduras	$3,50 \cdot 10^4$	$4,00 \cdot 10^4$
Coliformes Totales	$<1,0 \cdot 10^1$	$<1,00 \cdot 10^1$

Fuente: UOITA-Proyecto PHPFF

Elaborado por: Mercedes Pazuña

Contenido de Aminoácidos

En la presente investigación se evaluó según el método químico, de allí se comparó con el contenido de aminoácidos esenciales para el patrón of Medicine, National Academy of Science para niños >1 y adultos, del 2002.

En la tabla 6 indica el computo químico que es la relación entre la cantidad de aminoácido esencial presente en el fideo, multiplicado por 100 y dividido para el mismo aminoácido del patrón del Institute of Medicine, National Academy of Science, en la tabla se puede observar aminoácidos que sobrepasan del 100%, que se les considera como no deficitarios, y los menores del 100% que son los aminoácidos deficitarios.

Entre los aminoácidos deficitarios están en los fideos son: lisina, treonina y el triptófano, siendo el aminoácido limitante. Cabe recalcar que el fideo que contiene mayor porcentaje de lisina con relación a su proteína es la que contiene quinua con 53,36%, seguido del fideo que tiene papa con 49,48%, siendo este aminoácido esencial en la dieta diaria.

Tabla 6 “Comparación de Perfiles de Aminoácidos Esenciales (g/100g de proteína)”

patrón de aminoácidos para niños >1 año y adultos		Fideo de Quinua	Fideo de papa
Histidina	1,80	131,81	132,18
Isoleucina	2,50	120,03	121,12
Leucina	5,50	110,39	107,49
Lisina	5,10	53,36	49,48
Metionina+Cistina	2,50	117,24	161,50
Fenilalanina+Tirocina	4,70	167,78	190,22
Treonina	2,70	93,04	96,13
Valina	3,20	139,57	141,94
Triptófano	0,70	89,72	92,70

Fuente: Institute of Medicine, National Academy of Science, 2002

Elaborado por: Mercedes Pazuña

Análisis Bromatológico

En base al análisis proximal de los fideos elaborados con la mezcla de harina de quinua y papa se determinó que el contenido de humedad, cenizas, grasa, proteína y fibra son semejantes en ambos productos, principalmente en los carbohidratos, en cuanto a la proteína se obtuvo un porcentaje mayor en el fideo de quinua como muestra la tabla 7

Tabla 7 “Análisis Bromatológico de harinas y fideos”

	Humedad	Cenizas	Grasa	Proteína	Fibra	Carbohidratos	Energía
	%	%	%	%	%	%	Kcal/100g
Fideo de Quinua	10,23	1,10	0,76	15,63	1,3	81,21	394,20
Fideo de Papa	10,51	1,34	0,49	13,57	1,06	83,54	392,85

Fuente: INIAP, 2010

Elaborado por: Mercedes Pazuña

CONCLUSIONES

El estudio del efecto de los mejoradores de harina en el desarrollo de masas para la elaboración de pastas, considerando los porcentajes de sustitución (20% papa con 80% trigo importado), (30% quinua con 70% trigo importado) y las especificaciones de su adición (Glucosa oxidasa 150 ppm, Ácido ascórbico 100ppm, Emulsificante 250 ppm, Lipasa 200 Goma Xanthan 100 ppm, Peróxido de Benzoilo 140ppm), determinó que se optimiza la calidad de la harina en todas sus características; especialmente el fortalecimiento del gluten. Por otro lado, se mejoraron los parámetros que corresponden a la evaluación de pastas, fundamentalmente el tiempo de cocción (6 a 7 minutos); mismo que es un atributo primordial para el consumidor.

Además se aplicó el diseño experimental a partir de los datos de los catadores, quienes indican que el fideo con harina de papa tiene mayor aceptabilidad con referencia al fideo con harina de quinua y al fideo patrón con harina de trigo importado al 100%. En otras palabras, este sería un producto que se podría presentar en el mercado nacional, considerando sus propiedades nutricionales que son mejores que el trigo importado puro.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTOGNELLI, C., (1980), “Fabricación y Uso de Pastas como Alimento y como Ingrediente”. s.l. Springer. Pág. 121-145
- ARAYA, H. PAK, N. VERA, G. ALVIÑA, M., (2003), “Digestion rate of legume carbohydrates and glycemic index of legume-based meals”. Int. J. Food Sci. Nutr. Pág. 119-126.
- BERGMAN C, GUALBERTO D, WEBER C., (1996), “Nutritional evaluation of a high-temperature dried soft wheat pasta supplemented with cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp)”. Arch. Latinoam. Pág. 146-153.
- CALAVERAS Jesús, (1996), “Tratado de panificación y bollería”, primera edición, editorial ALMANSA Madrid-España. Pág. 81, 142
- CASTRO, S., (1995), “Utilización de Harina de Quinua en la elaboración de Fideos”, Tesis de Grado, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Pág. 12-16
- CHAMP, M. (2001), “Potential of grain legumes in food and feed”. edition 4th Conf. Grain Legumes, Cracovia, Polonia. Pág. 5.
- DALLA Rosa M, CENCIC L, PITTIA P, MASTROCOLA D., (1996), “Kinetics of physico-chemical and rheological modification of different pasta products during cooking process”. Italian Food Beverage Technol. Pág 15-19.
- FEILLET, P. (1984), “Conocimiento Actual Sobre Bioquímica de la Calidad Culinaria de las Pastas”. Montpellier: INRI. Pág. 551-556
- GRANITO, M. TORRES, A. GUERRA M., (1998), “Elaboración de pastas a partir de la sustitución de sémola de trigo por materias primas subutilizadas”. Rev. Tec. Ing. Univ. Zulia. Pág. 195-203.
- JENKINS, D., (1987), “Alimentos y fibra almidonados: índice reducido de la digestión y del metabolismo mejorado del carbohidrato”. Departamentos de la medicina metabólica de Nutrición y de la dietética escuela imperial de la Universidad de la Medicina, Hospital de Hammersmith: Londres. Pág. 131-141
- MANTHEY F., SAUJANYA Y., DICK T., BADARUDDIN M., (2004), “Estrusion properties and cooking quality of spaghetti containing buckwheat bran flour.” Cereal Chem, pág. 232-236

LINCOGRAFÍA

- BERNARDI, L., (2010), “Fécula de Mandioca”, Secretaria de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos, Argentina.
- <http://webcache.googleusercontent.com>
- Énfasis Alimentación Latinoamérica (2009), “Por una Mejor Calidad Panadera”.http://www.alimentacion.org.ar/index.php?option=com_content&view=article&id=1301:por-una-mejor-calidad-panadera&catid=38:publicaciones-especializadas&Itemid=56
- POPPER, L., MÜHLENCHMIE G., (2006), “Enzimas, Las mejores amigas de las harinas”.
- <http://www.ikerlarre.e.telefonica.net/paginas/enzimas.htm>
- PHPPF “Desarrollo de Mezclas Farináceas de Cereales (Maíz, Quinua y Cebada) y Papas ecuatorianas como Sustitutos Parciales del Trigo Importado para la elaboración de Pan y Fideos.
- QUIMINET, (2003), “Goma Xanthan”.
- http://eindustria.com/ar3/ar_vcdRsDF-goma-xanthan.htm
- WHEELER, David (1999), “Aditivos Alimentarios”.
- <http://www.aditivosalimentarios.com/index.php/codigo/481/estearoil-2-lactilato-de-sodio/>

EFFECTO DE LA SUSTITUCIÓN PARCIAL DE HARINA DE TRIGO, POR DOS TIPOS DE HARINA DE ZANAHORIA BLANCA (*Arracacia xanthorrhiza*), EN LA CALIDAD DE LA PASTA

EFFECT OF THE PARTIAL SUBSTITUTION OF WHEAT FLOUR FOR TWO TYPES OF WHITE CARROT (*Arracacia xanthorrhiza*) FLOUR ON QUALITY PASTE

Verónica Martínez * Mónica Silva ** H. Aníbal Saltos ***

* Egresada de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. ** Investigadora, UOITA.

*** Profesor de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos

RESUMEN

En este trabajo se estudió el efecto de la sustitución parcial de harina de trigo por harina de zanahoria blanca, HZB en la calidad organoléptica, nutricional, comercial y sanitaria de la pasta. Para ello se utilizaron proporciones al 5%, 10% y 15% (p/p), empleando HZB elaborada a partir de la muestra entera (con cáscara) y a la parte comestible (sin cáscara). Los contenidos de fibra para estos dos tipos de harina son alrededor de 3.02% y 3.13% respectivamente.

Las evaluaciones realizadas en la pasta incluyeron a las siguientes variables: tiempo de cocción, porcentaje de hinchamiento, grado de desintegración y diversas características sensoriales, físico-químicas y microbiológicas. Se ha encontrado que el tiempo de cocción de la pasta con mayor porcentaje de sustitución fue menor que el de la muestra control. Además se ha observado que el hinchamiento aumentó con las proporciones mayores de harina de zanahoria blanca; del mismo modo se incrementó el grado de desintegración. Los mejores tratamientos han resultado ser las pastas elaboradas con HZB/CC al 15% de sustitución, por su bajo tiempo de cocción, y la pasta con HZB/SC, al 5% de sustitución, por presentar el menor grado de desintegración.

Para la evaluación sensorial se estudiaron cinco atributos organolépticos en la pasta: color, apelmazamiento, firmeza, pegajosidad y aceptabilidad; aplicando en las catas escalas hedónicas estructuradas de 1 a 5 puntos siendo que los promedios más altos indican mejores características. Se determinó como mejor tratamiento a la pasta elaborada con HZB/SC al 5%, debido a que presenta promedios más altos y estadísticamente se demuestra que presenta menor o ninguna variación con la pasta elaborada con 100% harina de trigo. Esta pasta presenta 0.57% de fibra y su contenido de proteína (14.6%) es muy similar a la pasta control (14%), además su composición proximal y calidad microbiológica se ajusta a requerimientos establecidos para pasta. Los resultados de este estudio demuestran que la fibra incorporada con la harina de zanahoria blanca influye en las propiedades de cocción y sensoriales de la pasta, siendo que existe una relación directamente proporcional entre el porcentaje de fibra de la harina zanahoria blanca y el tiempo de cocción; y que por tanto esta harina posee gran potencial para la fabricación de pasta de alta calidad.

Palabras clave: Harina de zanahoria blanca, trigo, porcentaje de sustitución, fibra.

SUMMARY

In this research it was studied the effect of the partial substitution of the wheat flour by white carrot flour HZB, in the organoleptic, nutritional, commercial and sanitary qualities of the pasta. For achieving this, different proportions were considered: 5%, 10% and 15% (w/w), employing HZB made of the whole sample (with the skin) and with the eatable part (without skin). The fiber contents for these two types of flour are about 3.02% and 3.13% respectively.

The evaluations done for the pasta included the following variables: cooking time, percentage of swelling, disintegration grade and several sensorial characteristics as well as the physicochemical and the microbiological ones. It has been found that the cooking time for the pasta with the highest percentage of substitution was lower

than the one for the control sample. Additionally it was observed that the swelling increased with higher proportions of white carrot flour; also the disintegration grade increased. The best treatments resulted to be the pasta made of HZB/CC at 15% of substitution, because of its lower cooking time, and the pasta with HZB/SC, at 5% of substitution, because it showed less disintegration grade.

For the sensorial evaluation, five organoleptic attributes of the pasta were studied: color, caking, firmness, stickiness and acceptability; applying hedonic scales for the evaluation structured from 1 to 5 points being that the higher average showed the better characteristics. It was determined that the best treatment was the one for the pasta made with HZB/SC at 5%, because it showed higher averages and it was statistically proved that presented 0.57% of fiber and its protein content (14.6%) was so similar to the control pasta (14%), additionally its proximal composition and microbiological quality adjusted to the requirements established for the pasta. The results of this study proved that the added fiber with the white carrot flour influenced the cooking and sensorial properties of the pasta, being that exists a directly proportional relationship between the fiber percentage of the white carrot flour and the cooking time; and therefore this flour has great potential to produce high quality pasta.

Key words: white carrot flour, wheat, substitution percentage, fiber.

INTRODUCCIÓN

Para la elaboración de pastas usualmente se utilizan harina de trigo duro, agua y algunos ingredientes opcionales como las espinacas, tomates, hierbas, etc. (Hernández R., 2006) los mismos que influyen en el contenido nutricional de la pasta. No obstante, se puede decir que una ración típica de 225 g de pasta aporta el 10% de los requerimientos diarios de proteína. Por otra parte los consumidores han redescubierto las ventajas tradicionales de la pasta como son su larga vida útil, su bajo costo, versatilidad y diversidad de preparación (Granito M., 1998)

La zanahoria blanca tiene un gran potencial para ser usada en múltiples preparaciones. No obstante hasta el momento no existe en el país una industria dedicada a la explotación de esta raíz como fuente de harina o almidón. En Brasil, Nestlé y otras compañías procesan las raíces para producir una serie de fórmulas dietéticas para bebés y sopas instantáneas. (Villacrés y Espín, 1999).

Además la zanahoria blanca es reconocida por su contenido de fibra (alrededor del 3%). Cabe mencionar que la fibra no mejora la calidad sensorial de los productos en los que se incorpora, pero su importancia radica en los efectos benéficos que aporta en la salud, tales como agente terapéutico para los diabéticos (Rodríguez G., 2001).

Se ha demostrado que la harina de trigo enriquecida con harinas no convencionales de raíces y tubérculos, presenta baja digestibilidad por la presencia de almidones resistentes. El presente trabajo se realizó con la finalidad principal de diversificar el uso de zanahoria blanca elaborando pasta de su harina, mediante la sustitución parcial de harina de trigo por dos tipos de HZB, estudiando la: calidad culinaria, calidad sensorial, composición físico-química y microbiológica del producto.

OBJETIVOS

General:

Estudiar los efectos de la sustitución parcial de harina de trigo, por dos tipos de harina de zanahoria blanca (*Arracacia xanthorrhiza*) en la calidad de la pasta para fideos.

Específicos:

Elaborar dos tipos de harina de zanahoria blanca a partir del producto con y sin cáscara, proveniente del cantón Baños, provincia de Tungurahua, para su utilización en la sustitución de harina de trigo y consiguiente producción de pasta.

Analizar las propiedades físico-químicas de los dos tipos de harina de zanahoria blanca (con y sin cáscara).

Seleccionar los mejores tratamientos evaluando las propiedades de cocción de la pasta.

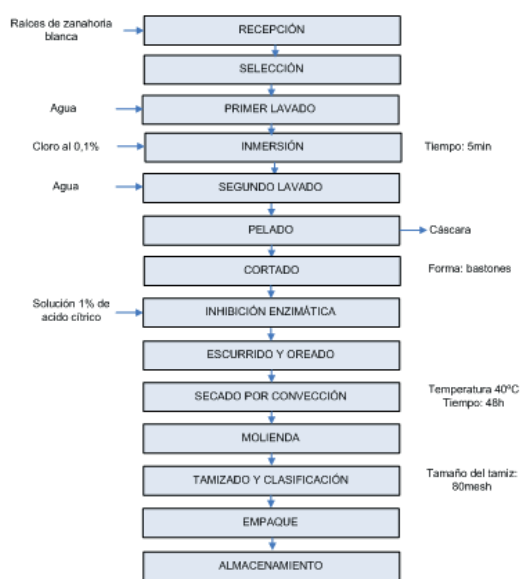


Gráfico 1. Diagrama de flujo de la elaboración de harina de zanahoria blanca (*Arracacia xanthorrhiza*) sin cáscara.

Nota: Para la realización de HZB con cáscara se omite el proceso de pelado.

En la segunda fase se caracteriza los dos tipos de harina, mediante los siguientes análisis físicos y químicos: almidón (Norma INEN 524), pH con el empleo del pH-metro, humedad en una balanza Infrarroja y fibra según el método MO-LSAIA-01.05.

Y finalmente en la tercera fase se elabora la pasta, aplicando un diseño experimental 2x3, en el que intervienen los siguientes factores:

Factor A: Tipos de harina:

a_0 = Harina de zanahoria blanca con cáscara, HZB/CC

a_1 = Harina de zanahoria blanca sin cáscara, HZB/SC.

Factor B: Porcentaje de sustitución de harina de trigo, por harina de zanahoria blanca

b_0 = 5%

b_1 = 10%

b_2 = 15%

Lo anterior implica que se ha trabajado con 6 tratamientos en 3 replicas, es decir 18 corridas experimentales ejecutadas aleatoriamente. La elaboración de pasta se realiza de acuerdo al diagrama indicado en el gráfico 2:

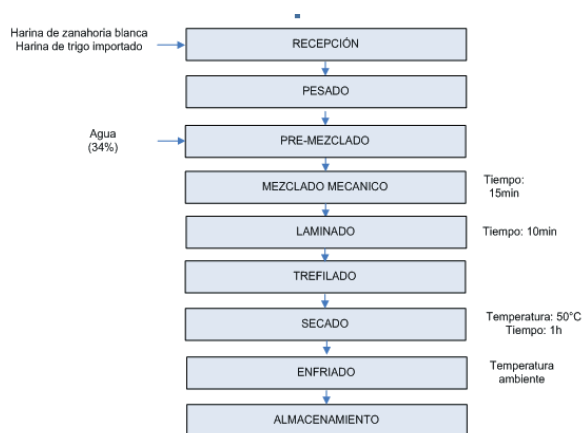


Gráfico 2. Diagrama de flujo para la elaboración de pasta

Para la evaluación de la pasta primero se ha determinado las propiedades de cocción, evaluándose las siguientes variables: (a) tiempo de cocción establecido al colocar la muestra en agua, en una relación 1:10 y registrando el tiempo inmediatamente antes que desaparezca el nervio en el centro de la pasta; (b) porcentaje de hinchamiento; para ello se determina el peso de la pasta seca y de la pasta cocida y (c) grado de desintegración que hace referencia al porcentaje de sólidos disueltos en el agua de cocción y de lavado. Posteriormente se evaluó la calidad sensorial en los dos mejores tratamientos; en esta fase se aplicó un diseño de bloques en el cual se ha aislado el efecto de los catadores. La evaluación sensorial ha incluido las siguientes características organolépticas:

Color: permite evaluar si el color obtenido en la pasta es agradable.

Apelmazamiento: es el grado de soltura de la pasta al visualizarla.

Firmeza: es la resistencia de la pasta cocida al masticarla.

Pegajosidad: es la fuerza de adherencia de la superficie de la pasta a la lengua o paladar.

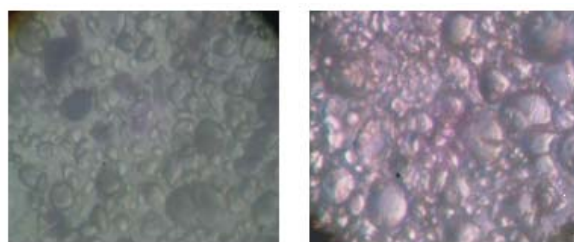
Aceptabilidad: es la característica que indica si la pasta es aceptable.

En el mejor tratamiento, se analizaron las propiedades químicas y la calidad microbiológica de la pasta.

DISCUSIÓN

Rendimiento y propiedades físico-químicas de los dos tipos de harina.

Para los dos tipos de harina elaboradas los rendimientos fueron altos en base seca (99,8%), y en relación peso/peso fueron bajos reportándose un 12,4% y 10,4% para HZB/CC y HZB/SC respectivamente. Los dos tipos de harina de zanahoria blanca, presentan gránulos esféricos y de un tamaño mayor al de la harina de trigo, como se aprecia en las siguientes fotografías:



Fotografía 1. Almidón de la harina de zanahoria blanca (400X).

(Izquierda: con cáscara. Derecha: sin cáscara)



Fotografía 2. Almidón de la harina de trigo (400X)

Por otra parte, la humedad de los dos tipos de harina esta comprendida entre el 7% y 8%, valor que se encuentra dentro de lo establecido por las Normas CODEX (15.5%). El porcentaje de fibra obtenido es comparativamente más alto que el de la harina de trigo. En efecto reportamos 3.13% y 3.02% para la HZB/CC y HZB/SC respectivamente; mientras que el de la harina de trigo es de 0.25%.

Evaluación de la pasta cocida

En la pasta cocida, se analizó la influencia de la sustitución parcial de harina de trigo, por dos tipos de harina de zanahoria blanca, haciendo énfasis en las principales propiedades de cocción.

Tiempo de cocción

El tiempo óptimo de cocción en una pasta es el tiempo necesario, para obtener una completa gelatinización del almidón. (Ovando. M, 2008). Mediante el análisis de varianza, se evidencia que hay efecto combinado significativo entre el tipo de harina (factor A) y los niveles de sustitución (factor B). Además que el efecto de los factores principales también son significativos. Estableciéndose por otra parte, una relación inversamente proporcional entre el porcentaje de sustitución y el tiempo de cocción. La HZB, genera bajos tiempos de cocción debido a la influencia del contenido de amilosa (20%) y calidad de la proteína.

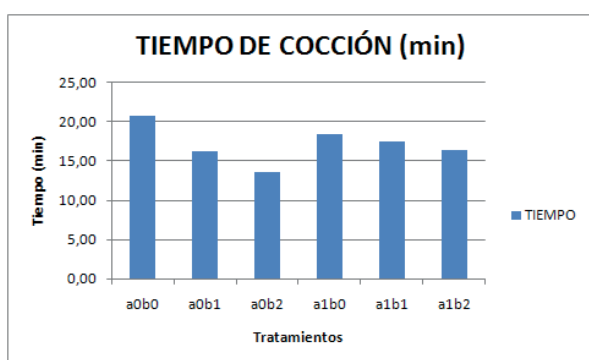


Gráfico 1. Promedio de los tiempos de cocción de las pastas elaboradas.

Porcentaje de hinchamiento

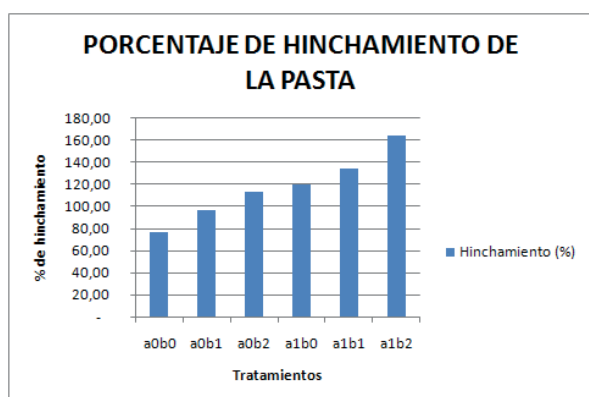


Gráfico 2. Promedio de los porcentajes de hinchamiento de las pastas elaboradas

El porcentaje de hinchamiento, está relacionado con la capacidad del almidón para absorber agua durante un cierto periodo de tiempo, mismo que se cuantifica en base al índice de absorción de agua. (García A. y Pacheco E., 2007). Este parámetro de cocción presenta una relación directamente proporcional con el % de sustitución de harina de trigo por HZB y con el tamaño de los gránulos de almidón; por otro lado García y

col. (2007) reportan que se encuentra relacionado inversamente con el contenido de amilopectina. Se establece además que el efecto combinado entre el tipo de harina (factor A) y los niveles de sustitución (factor B) no resulta significativo para esta variable, sin embargo el efecto de los factores principales si son significativos.

Grado de desintegración

Cole establece que durante la cocción la pasta debe mantener su forma sin desintegrarse, mientras son liberadas al agua de cocción pequeñas cantidades de material sólido (Ovando, 2008). Para esta variable se evidencia que el efecto combinado entre el tipo de harina (factor A) y los niveles de sustitución (factor B) resulta significativo, así como sus correspondientes efectos de los factores principales. Los altos valores de pérdidas por cocción, pueden estar dados por la disminución de la calidad de la proteína, al aumentar el porcentaje de sustitución en las pastas. Hay que mencionar que el tratamiento a_1b_0 (12.22%) que es el de menor grado de desintegración para el agua de cocción, es mayor al reportado como requisito técnico de calidad para pastas del 12% (Normativa Boliviana).

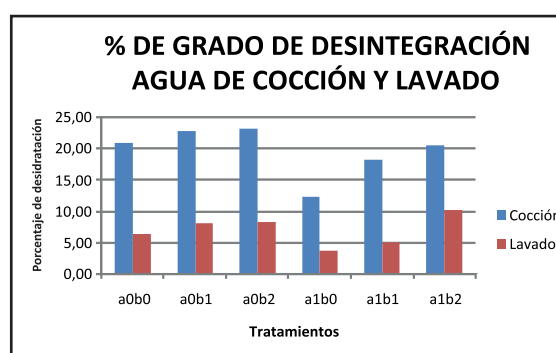


Gráfico 3. Promedio de los porcentajes de desintegración para el agua de cocción de las pastas elaboradas.

Selección de los dos mejores tratamientos

Mediante la evaluación de las propiedades de cocción de la pasta, se establece como mejores tratamientos: a_0b_2 (Harina de trigo 85% + HZB/CC 15%) por tener el menor tiempo de cocción, 13.54min y a_1b_0 (Harina de trigo 95% + HZB/SC 5%) por su bajo grado de desintegración, 12.22% y 3.61% para agua de cocción y lavado respectivamente. Para el porcentaje de hinchamiento el factor que influye favorablemente es b_2 que indica un 15% de sustitución para la elaboración de pastas. Sin embargo hay que mencionar que menores tiempos de cocción generan mayores grados de desintegración en pastas elaboradas con HZB, siendo más evidente este fenómeno para el agua de cocción.

Evaluación sensorial

Por lo anteriormente descrito las muestras que han sido evaluadas sensorialmente fueron a_0b_2 (T2), a_1b_0 (T3), y el control (100% harina de trigo, T1), trabajando con un

panel de 15 catadores escogidos aleatoriamente. En esta evaluación la pasta fue sometida a cocción, durante el tiempo previamente establecido para cada tratamiento y además las muestras se encontraban libres de aderezos y sin acompañamiento de otro tipo de alimento. Las cataciones fueron realizadas por personas de edad comprendida entre los 18 y 25 años de edad. Para el diseño experimental de bloques completos, se acepta H_0 solo para la firmeza, por lo tanto el efecto de los tratamientos en este atributo sensorial es el mismo. Además mediante la prueba de Dunnet se observa que los tratamientos elaborados con HZB, difieren del tratamiento control a un nivel de significación de 0.05%. Los tratamientos elaborados con HZB, presentan diferencia con el control debido a su coloración marrón. Para el apelmazamiento y la pegajosidad se establece una relación directamente proporcional con el porcentaje de fibra de la harina; no obstante para la aceptabilidad la relación es inversamente proporcional.

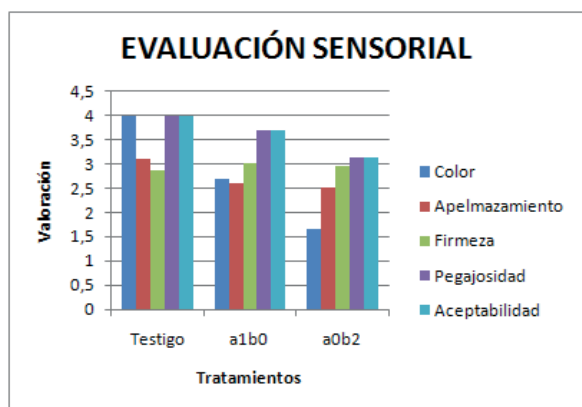


Gráfico 4. Promedio de las calificaciones de cata obtenidas en la evaluación sensorial de la pasta cocida.

Selección del mejor tratamiento

Se determina como mejor tratamiento al T3, pasta elaborada con HZB/SC al 5% de sustitución, debido a que en todos los parámetros presenta menor o ninguna variación con el control (100% harina de trigo). Esto es indicativo de que mayores porcentajes de sustitución de harina de trigo por HZB, afectan la calidad sensorial de la pasta, de ahí la baja preferencia por los consumidores con rangos de edad bajos para el tratamiento 2 (HZB/CC al 15% de sustitución).

Propiedades químicas y análisis microbiológico del mejor tratamiento

El análisis proximal y los análisis microbiológicos realizados demostraron que la pasta elaborada con sustitución parcial de harina de trigo por harina de zanahoria blanca al 5% cumple con lo establecido por la norma INEN 1375 para pastas. Además que su porcentaje de proteína no presenta diferencia significativa con una pasta elaborada con 100% de harina de trigo, obteniéndose 14% para pasta con harina de trigo y 14.6% para pasta con HZB/SC. Además este porcentaje

de sustitución otorga un 0.57% de fibra. Por otra parte se puede afirmar que las pastas elaboradas presentan una adecuada calidad sanitaria, mantenida durante todo el proceso de producción y almacenamiento.

Tabla 1. Composición proximal de la pasta elaborada con HZB/SC al 5% de sustitución y 100% harina de trigo

Parámetro	Porcentaje (%)		
	95% de harina de trigo + HZB/SC al 5%	100% harina de trigo (Norma INEN 1375)	
		Min.	Máx.
Sólidos totales	85.40	-	-
Carbohidratos	83.83	-	-
Proteína	14.60	10.50	-
Humedad	11.60	-	14.00
Cenizas	0.67	-	0.85
Fibra	0.57	-	-
Extracto etéreo	0.20	-	-

CONCLUSIONES

La sustitución parcial de harina de trigo por harina de zanahoria blanca al 5%, 10% y 15% influye en la calidad de cocción de la pasta; a mayores porcentajes de sustitución, disminuye el tiempo de cocción y el grado de aceptación de la pasta e incrementa el porcentaje de hinchamiento y el grado de desintegración.

La metodología desarrollada consiste en las siguientes operaciones selección, lavado, inmersión en cloro al 0.1%, cortado, inhibición enzimática con ácido cítrico al 1%, escurrido, secado por convección durante 48h a 40°C, molienda (molino de acero), tamizado a 80mesh, clasificación y empaque en fundas de polietileno; para el caso de la harina de zanahoria blanca sin cáscara se incluye el proceso de pelado. El rendimiento es del 12.4% y 10.4% (p/p) para harina de zanahoria blanca con y sin cáscara respectivamente.

El contenido de fibra es mayor para la harina de zanahoria blanca con cáscara (3.13%) en comparación con la harina de zanahoria blanca sin cáscara (3.02%) y en lo que respecta a la humedad se reporta 8.02% y 7.7% respectivamente. Para ambos tipos de harina de zanahoria blanca el pH es 6 y los gránulos esféricos de almidón son mayores en tamaño a los de la harina de trigo.

Respecto a las propiedades de cocción de la pasta, se establece como mejores a los tratamientos: a_0b_2 (HZB/CC al 15% de sustitución) por su bajo tiempo de cocción (13.5min) y a_1b_0 (HZB/SC al 5% de sustitución) por tener el menor grado de desintegración (12.2% para agua de cocción).

La evaluación sensorial establece como mejor al tratamiento a_1b_0 (HZB/SC al 5% de sustitución) por presentar mayor apelmazamiento (2.6), mayor aceptabilidad (3.7) y menor pegajosidad (3.13) en comparación con el tratamiento a_0b_2 (HZB/CC al 15% de sustitución). Respecto a la firmeza no presenta diferencia estadísticamente significativa para ambos

tratamientos, ni tampoco presenta ninguna variación con la pasta elaborada con 100% harina de trigo.

El mejor tratamiento (Harina de trigo 95% + HZB/SC 5%) presenta los siguientes parámetros físico-químicos: una humedad de 11.6%, proteína (14.6%) y cenizas (0.7%); por lo que se ajusta a los requerimientos establecidos para pasta (Norma INEN 1375) al igual que la calidad microbiológica que consta de la evaluación de aerobios mesófilos, mohos, levaduras y coliformes.

BIBLIOGRAFIA

CASTRO J. 1965, "Utilización de harina de quinua en la elaboración de fideos". 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. 200 pp y Anexos.

ESPINOSA P. 1997. Raíces y tubérculos andinos cultivos marginados en el Ecuador: situación actual y limitaciones para la producción. Edición ilustrada. Editor International. Pp. 178

ESPÍN S. y col. 2000. "Caracterización Físico-Química, nutricional y Funcional de Raíces y Tubérculos Andinos". En: Memorias del VI Congreso Nacional de Ciencias. Ambato-Ecuador. Pp. 18

GARCÍA A. Y PACHECO E., 2007. Revista Facultad Nacional de Agronomía. "Evaluación de galletas dulces tipo wafer a base de harina de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* B.). Medellín-Colombia. Pp. 18

GRANITO M. y col. 1998. Revista Técnica de Ingeniería. Volumen 21. "Elaboración de pastas a partir de la sustitución de sémola de trigo por materias primas subutilizadas". Universidad Simón Bolívar. Estado Miranda-Venezuela. Pp. 9.

HERNÁNDEZ R. 2006. "Elaboración de espagueti adicionado con almidón de plátano: caracterización física, química, nutricional y de calidad". Tesis de grado para optar por el grado de Maestro en Ciencias en Desarrollo de productos bióticos. Centro de desarrollo de productos bióticos. Yauatepec – México. Pp. 82

NORMA INEN, Normativa del Instituto Nacional Ecuatoriano de Normalización. 524, 526, 616 y 1375. Quito-Ecuador.

NORMA IBNORCA, Normativa Boliviana. EQNB 39001. Harinas y derivados. Pastas alimenticias o fideos.

NORMATIVA CODEX STAN 249-2006. Fideos instantáneos.

NORMATIVA CODEX STAN 152-1985. Harina de trigo.

OBANDO M. 2008 "Pasta adicionada con harina de amaranto: digestibilidad y capacidad antioxidante". Tesis de grado para optar por el grado de Maestría en Ciencias en Desarrollo de Productos Bióticos. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. México-México. 105 pp. y Anexos.

RODRÍGUEZ G. 2001. Manual técnico, CORPOICA. "Elaboración de harina de *Arracacia xanthorrhiza*". Bogotá- Colombia. Pp. 24

SALTOSH. 2010 "Sensometría. Análisis en el desarrollo de alimentos procesados". Editorial Pedagógica Freire. Única Edición. Ambato-Ecuador. Pp. 421

VILLACRES E., Y ESPÍN S., 1999. "Evaluación del rendimiento, características y propiedades del almidón de algunas raíces y tubérculos andinos. En: Avances de Investigación. Tomo I. Lima – Perú. Pp. 30

UTILIZACIÓN DE ENZIMAS PECTOLÍTICAS (*Lallzyme EX* y *Lallzyme C-MAX*), EN LA ELABORACIÓN DE VINO DE MORA (*Rubus glaucus Benth*) Y SU INCIDENCIA EN LA CALIDAD SENSORIAL.

USE OF PECTOLITICS ENZYMES (*Lallzyme EX* y *Lallzyme C-MAX*) IN THE ELABORATION OF WINE BLACKBERRY (*Rubus glaucus Benth*) AND ITS IMPACT ON THE SENSORY QUALITY

Patricia Guano, Jacqueline Ortiz

Universidad Técnica de Ambato – Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos
AMBATO-ECUADOR.

E-mail: patriciaalexandrag85@yahoo.es

RESUMEN

Se estudiaron los efectos sobre la calidad sensorial y el tiempo de clarificación, mediante la adición de enzimas pectolíticas: Lallzyme EX (adición antes de la fermentación) y Lallzyme C-MAX (adición después de la fermentación) en la elaboración de vino de mora (*Rubus glaucus Benth*).

Al iniciar el proceso fermentativo los mostos de 21 °Brix fueron inoculados con levadura vínica Lalvin EC 1118. Al finalizar la fermentación, se tuvo un vino con 7,1 °Brix; pH 3,0; acidez total 0,96 (g. ácido málico/100ml); y grado alcohólico 13,4 - 14,4 (°GL).

Los mostos fueron analizados durante el proceso de fermentación y en el proceso de maduración durante dos meses, evaluándose los parámetros: físico - químicos, espectrofotométricos, y su riqueza polifenólica. A través del análisis espectrofotométrico se estableció que la utilización de la enzima pectolítica Lallzyme EX en el vino de mora (*Rubus glaucus Benth*) no presentó ningún efecto significativo sobre la composición fenólica del vino; y el análisis físico químico: extracto seco y turbidez permitió identificar que la enzima pectolítica Lallzyme C- MAX si tuvo un efecto significativo sobre la clarificación y las características sensoriales del vino elaborado.

En base a la evaluación sensorial se identificó que el mejor tratamiento fue a₁b₂ (Lallzyme C- MAX; 0,0025 g/ lt vino); en este tratamiento se realizó un análisis microbiológico, cromatográfico; la determinación del grado alcohólico y la estabilidad del vino.

Palabras claves: enzima pectolítica, calidad sensorial, fermentación.

SUMMARY

The effect on the sensorial quality and the time of clarification were studied through the addition of pectolytic enzymes: Lallzyme EX (addition before the fermentation) and Lallzyme C-MAX (addition after the fermentation) in the production of blackberry (*Rubus glaucus Benth*) wine.

At the beginning of the fermentation process, the 21 °Brix musts were inoculated with wine yeast Lalvin EC 1118. At the end of the fermentation, the wine has 7.1 °Brix; pH 3.0; total acidity 0.96 (g. malic acid/100ml); and alcoholic degree 13.4 – 14.4 (°GL).

The musts were analyzed during the fermentation and maturation processes for two months, evaluating the following parameters: physicochemical, spectrophotometric and its polyphenolic richness. Through the spectrophotometric analysis it was established that the use of the pectolytic enzyme Lallzyme EX in the blackberry (*Rubus glaucus Benth*) wine does not present any significant effect on the phenolic composition of wine; and the physicochemical analysis: dry extract and turbidity allow to identify that the pectolytic enzyme Lallzyme C-MAX has indeed a significant effect on the clarification and sensorial characteristics of the produced wine.

Based on the sensorial evaluation it was identify the best treatment: a₁b₂ (Lallzyme C- MAX; 0.0025 g/l wine); for this treatment the following analysis were done: microbiological and chromatographical analysis, alcoholic degree and wine stability.

Key words: pectolytic enzymes, sensorial quality, fermentation.

INTRODUCCIÓN

En Ecuador la mora de Castilla es una fruta de consumo diario en la mayoría de las familias, por lo que su demanda es de 2 kilogramos por familia; su producción en las provincias de Bolívar, Cotopaxi y Tungurahua no alcanza a la óptima de 5 kilogramos por planta y por ciclo, debido a problemas de plagas y enfermedades e inadecuado manejo del cultivo [30].

La mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth) es un producto agrícola de gran demanda en nuestro país, debido a las características organolépticas que posee, las cuales permiten elaborar productos alimenticios procesados conservando así su valor nutritivo y características sensoriales.

Los vinos de frutas son una alternativa viable para el desarrollo agro industrial, ya que dan un valor agregado a la fruta, y abren un nuevo mercado aumentando los beneficios económicos. Además la elaboración de vinos a partir de jugos de frutas garantiza la estabilidad del producto a temperaturas ambiente reduciendo costos [16].

Al no ser un país productor de vinos, Ecuador vivió por largo tiempo ajeno a la cultura y al disfrute del consumo de vinos frutales, sin embargo desde hace algunos años el mercado ecuatoriano ha tenido una importante oferta de vinos de diversas latitudes, pero que desgraciadamente no compaginan con el conocimiento y la apreciación del público consumidor [31].

En nuestra provincia una pequeña producción de la fruta se destina a la elaboración de vinos de mora, así por ejemplo la Asociación de Mujeres Campesinas “ALBORADA” de la Comunidad Santa Rosa (Cantón Ambato, Provincia de Tungurahua), produce vinos frutales de buena calidad en una pequeña planta de producción de vinos de frutas en esta provincia, ubicada en el caserío El Quinche, su construcción ha sido financiada por el gobierno Alemán y por el Honorable Consejo Provincial de Tungurahua [18].

Por lo tanto el presente estudio pretende potenciar y mejorar la producción de vino de mora (*Rubus glaucus* Benth), primordialmente de la Asociación de Mujeres Campesinas “Alborada” (ASOMA), mediante la utilización de enzimas pectolíticas, con la finalidad de mejorar la calidad sensorial del producto obtenido.

Gamboa, M. (2003), señala que la intervención de los preparados enzimáticos en la producción de vino de mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth) mejora el rendimiento del vino y ayuda también en la clarificación facilitando la liberación del zumo con la degradación de la pectina [7].

De acuerdo al Catálogo LALLEMAND (2009), el uso de enzimas pectolíticas (pectinasas) es esencial para hidrolizar las pectinas del mosto, y permite al enólogo realizar una clarificación mucho más rápida, que significa también un período de contacto entre el

mosto y los sólidos más reducido, limitando el riesgo de gustos indeseables.

La mayoría de las enzimas usadas en enología son pectinasas obtenidas de microorganismos no patógenos (ej: *Aspergillus Níger*).

La mejora de la clarificación y la filtrabilidad se obtienen a través de la acción de las pectinasas, principalmente mientras se produce la maceración gracias a las pectinasas y diversas actividades paralelas como celulasas y hemicelulasas.

Durante la maceración, la difusión de compuestos intracelulares (antocianos, taninos, precursores de aroma) está limitada por la pared celular, pero el uso de enzimas permite una más rápida y completa liberación, difusión y estabilización (extracción) de taninos y color, que permite una mejor estabilización del color del vino.

La concentración equilibrada de pectinasas y hemicelulasas de Lallzyme EX, aumenta la extracción y mejora la filtrabilidad del vino.

Lallzyme C-MAX, es un preparado enzimático con alta especificidad debido a su alto nivel de enzimas con actividad “endo” (pectiniliasa y endo-poligalacturonasa) otorgando al producto propiedades únicas: rápida disminución de la viscosidad, eficiente incluso a bajas temperaturas (mín. 5°C), mejora de la sedimentación.

Lallzyme C-MAX contiene un nivel óptimo de las tres principales pectinasas relacionadas con la hidrólisis de las pectinas: poligalacturonasas, pectinesterasas y pectiniliasas [6].

De acuerdo a ZHAO, Yanyun (2007), las antocianinas son pigmentos de plantas (bayas), solubles en agua que suministran el color a una variedad de frutas, verduras, granos de cereal, y flores; pertenecen a la clase de compuestos flavonoídes comúnmente conocidos como polifenoles de plantas [29].

En la mora los elagitaninos son los compuestos con diferencia más abundantes [26].

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Se utilizó mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth), proveniente de la provincia de Tungurahua, cantón Tisaleo; preparados enzimáticos Lallzyme EX - Lallzyme C-MAX y levadura vínica Lalvin EC 1118 adquiridos en la empresa LALLEMAND - España, azúcar comercial, fosfato de amonio y metabisulfito de sodio.

Como equipos se utilizaron: estufa, licuadora industrial, balanza analítica, espectrofotómetro, pH-metro, brixómetro, material de vidrio como vasos de precipitación, matraz erlenmeyer, probetas graduadas, pipetas.

Método

Para la elaboración del mosto se trituró la fruta con una licuadora industrial, la relación utilizada agua-fruta fue 2:1; luego se curó el mosto con metabisulfito de sodio (75 ppm), a los tratamientos asignados se adicionó la enzima de maceración EX (0,00 g/Kg mora; 0,02 g/Kg mora; 0,03 g/Kg mora) y se dejó reposar el mosto por 24 horas a temperatura ambiente.

Posteriormente en el mosto se adicionó azúcar comercial hasta alcanzar 21°Brix, y fosfato de amonio (100 ppm). Se inocularon los tratamientos con levadura vínica Lalvin EC 1118, en una dosis de 0,3 g/lit de mosto, la fermentación terminó cuando los °Brix se estabilizaron (7,1 °Brix).

El proceso de fermentación duró 16 días aproximadamente, durante este proceso se determinó: sólidos solubles (Amerine M.A. y Ough C.S, 1976) [2]; pH (Rankine, B; 1989) [19]; acidez total (Vine, Richard; 1981) [27]; intensidad colorante (IC), tonalidad (T) y color del vino (WC) (Reglamento CEE N° 2676/90) [25]; color de los pigmentos poliméricos (PPC), color de los antocianos libres (AC) y edad química del vino (CAW) (Somers y Evans;1977) [24] cada 48 horas y el contenido de antocianos monoméricos totales (AT) (Giusti y Wrolstad, 2001) [9] cada 192 horas.

Se realizó el primer trasiego y se sulfitaron los vinos (75 ppm); a los tratamientos asignados se adicionó la enzima de clarificación C-MAX (0,0000 g/lit vino; 0,0013 g/lit vino; 0,0025 g/lit vino). Se inició el proceso de maduración, durante 2 meses se analizó los parámetros realizados en la fermentación y extracto seco (Norma INEN 346) [12], grado alcohólico^a (Norma INEN 360) [13], polifenoles totales^b (Waterhouse, 2001) [28], índice de polifenoles totales^b (Ribéreau-Gayon 1982) [23] y turbidez^b (Resolución OENO 4/2000) [15] cada 360 horas.

Luego se realizó el segundo trasiego, se envasó y etiquetó el vino en botellas de vidrio de 750 ml.

Se almacenó el vino durante 4 meses y se realizó el análisis sensorial (Moreno, 2008) [11], para determinar el mejor tratamiento, en este se realizó: análisis microbiológico [32], cromatográfico^b (Peinado, R. *et al.* 2004) [17] y de estabilidad (Alvarado, J; 1996) [1].

Diseño experimental

En el estudio se aplicó un diseño experimental AxB (2x3).

El factor A: Tratamiento enzimático: 2 niveles.

El factor B: Dosis de adición de enzima pectolítica: 3 niveles.

Tabla 1. Detalle del diseño experimental AxB y simbología utilizada

Factor B (Dosis)	Factor A (Tratamiento enzimático)	
	a ₀ : Lallzyme EX	a ₁ : Lallzyme C-MAX
b ₀	0,00 g/Kg mora	0,0000 g/lit vino
b ₁	0,02 g/Kg mora	0,0013 g/lit vino
b ₂	0,03 g/Kg mora	0,0025 g/lit vino

Siendo: R₁: Réplica 1 R₂: Réplica 2

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Proceso de fermentación

Análisis físico – químicos

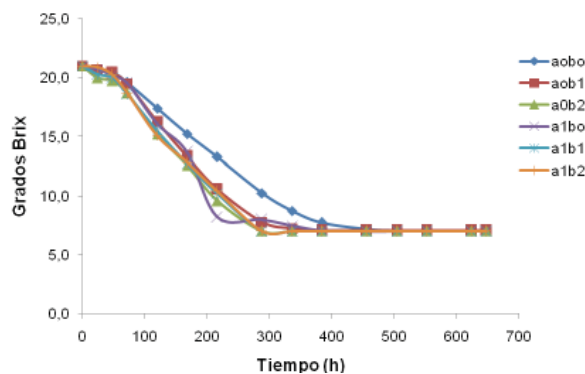
- Sólidos solubles

En el gráfico 1, se observa que los tratamientos iniciaron en 21 °Brix, hasta alcanzar un nivel final de 7 °Brix. Según Cabrera y Velasco (1989), los valores de °Brix para un vino de mora son de 7,0 - 7,1 [4]; es decir que los datos obtenidos concuerdan con este estudio.

^aMétodo realizado en Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN)

^bMétodo realizado en el Departamento de Tecnología de Alimentos de la Universidad Pública de Navarra-España.

Gráfico 1. °Brix Vs. Tiempo durante la fermentación de vino de mora (*Rubus glaucus* Benth)

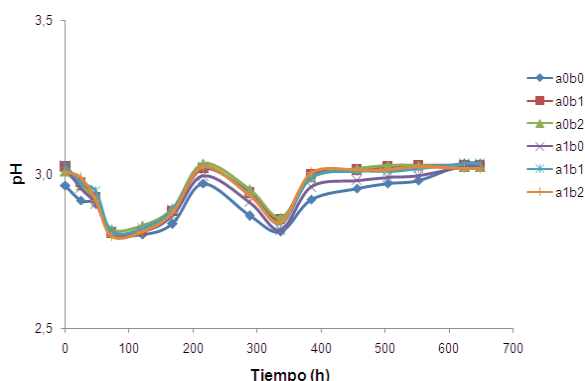


- pH

En el gráfico 2, se demuestra que el pH tiene igual variación durante la fermentación. Es decir que se parte de un pH de 3,0 y disminuye hasta valores entre 2,8 - 2,9; para estabilizarse en un pH de 3,0.

Los valores de pH registrados concuerdan con los valores bibliográficos citados por Amerine (1976), el mismo que recomienda un valor de pH inferior a 3,6 para este tipo de vinos [2].

Gráfico 2. pH Vs. Tiempo durante la fermentación de vino de mora (*Rubus glaucus* Benth)

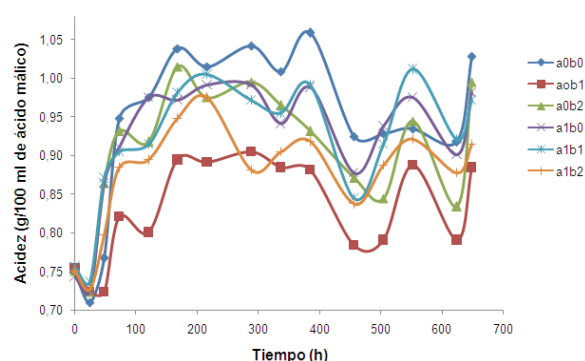


- Acidez total (g. ácido málico/100 ml)

En el gráfico 3, se presenta la evolución de la acidez total en la fermentación (0,74 - 0,76% expresado como ácido málico); al finalizar el proceso la acidez total en los vinos tuvo un valor entre 0,88 - 1,03%.

De acuerdo a la norma INEN 374, la acidez total para vinos frutales se encuentra en un rango de 0,60 - 1,30% [14]; por lo tanto la acidez total registrada para los distintos tratamientos concuerda con la norma correspondiente.

Gráfico 3. Acidez Vs. Tiempo durante la fermentación de vino de mora (*Rubus glaucus* Benth)



Análisis espectrofotométricos

En la mora hay varios tipos de compuestos fenólicos pero dos de ellos destacan desde el punto de vista cuantitativo y cualitativo: los elagitaninos y los antocianos; los elagitaninos se sitúan sobre todo en las pepas de la fruta, que son pequeñas y tienen una estructura firme [3].

En la tabla A1, se observa que los tratamientos muestran tendencias en la evolución de los parámetros de color durante el proceso fermentativo, similares a un vino tinto, es decir que la IC, WC, AC y AT (mg/l) disminuyen; a diferencia del PPC, T y CAW (%) que se incrementan en el transcurso del tiempo.

Dicha disminución se debe a que los antocianos libres se precipitaron en cierta cantidad en la fermentación y otra cantidad se combinó con otros compuestos

(antocianos, compuestos fenólicos, en el caso de la mora fundamentalmente los elagitaninos y compuestos no fenólicos, etc) [3].

Es evidente que en los distintos tratamientos se formaron nuevos pigmentos en su mayor parte resistentes a la decoloración mediante bisulfito.

Análisis de varianza

Estadísticamente no existe diferencia significativa entre los tratamientos durante el proceso de fermentación en ninguna de las variables de estudio, a un nivel de significancia de 0,05; por lo tanto el tipo de tratamiento enzimático y la dosis de adición no influyen sobre dichas variables.

Si bien no se denotaron diferencias estadísticas, los tratamientos enzimados con Lallzyme EX: a_0b_1 y a_0b_2 incrementaron la extracción de antocianos monoméricos totales en un 9,6% y 15,86% respectivamente, con relación al tratamiento testigo a_0b_0 .

Proceso de maduración

Análisis físico - químicos

El proceso de maduración fue evaluado por dos meses, período en el cual los °Brix, el pH y la acidez total se mantuvieron constantes.

- Extracto seco (g/1000 ml)

De acuerdo a la tabla A2, los vinos tratados después de la fermentación con enzima C-MAX tienen menor contenido de extracto seco, frente a los vinos tratados antes de la fermentación con enzima EX; es decir que el preparado enzimático Lallzyme C-MAX posee alta especificidad debido a su alto nivel de enzimas con actividad "endo" (pectiniliasa y endo-poligalacturonasa) [6], lo que influyó notoriamente en la rápida disminución de la viscosidad y mejora de la sedimentación en los vinos.

El valor de extracto seco de los vinos elaborados se encuentra en un rango de 14,16 a 16,90 g/1000 ml y de acuerdo a Reventos (1960), el contenido de extracto de un vino normal oscila entre 13,900 - 19,790 gramos por litro [20]; por lo tanto el contenido de extracto seco en los vinos de mora se encuentran en los límites señalados por este autor.

El análisis de varianza demuestra que la variable extracto seco presenta diferencia significativa entre los tratamientos durante el proceso de maduración a $p=0,05$ en el factor A; atribuida al tratamiento enzimático Lallzyme C-MAX.

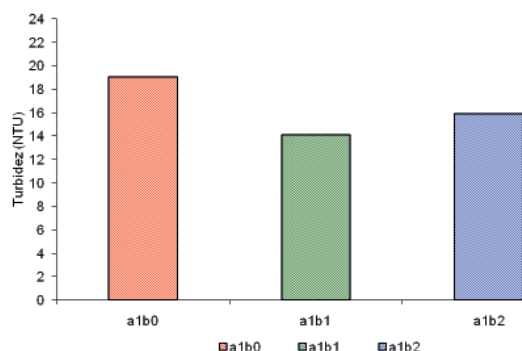
- Turbidez (NTU)

En lo referente a la medida de turbidez los tratamientos que contienen Lallzyme C- MAX presentan menor contenido de sólidos en suspensión (gráfico 4), debido a que posee pectiniliasas, que cortan las cadenas largas de las pectinas y las transforman en pequeñas cadenas;

dando lugar a un mosto menos viscosos y con menor cantidad de sólidos en suspensión [6].

El análisis de varianza para la variable turbidez determina que existe diferencia significativa entre los tratamientos durante el proceso de maduración, a un nivel de significancia de 0,05; en el factor A, atribuida al tratamiento enzimático Lallzyme C-MAX.

Gráfico 4. Turbidez (NTU) en vino de mora (*Rubus glaucus Benth*)



Análisis espectrofotométricos

En las tablas A4 a la A10, se presenta la evolución de los parámetros de color durante el proceso de maduración. Destacando que a las 360 horas de la maduración se observó un incremento de IC, WC y AC; y una disminución de T y CAW posiblemente debido a la incorporación de oxígeno al trasegar (comparable con la micro-oxigenación); luego de este período la evolución de los parámetros de color tuvo una tendencia normal.

La micro-oxigenación es una técnica consistente en la oxigenación continuada del vino, principalmente en depósito, con una dosificación baja y racional, acorde a las características del vino y a los objetivos perseguidos. Entre éstos se encuentran el aumento de la intensidad colorante de los vinos, la estabilización del color, la reducción de la astringencia y armonización de las sensaciones en boca, o la eliminación de aromas reductores [10].

Hay que resaltar que en la maduración la formación de nuevos pigmentos poliméricos es mayor que en el proceso de fermentación.

Estadísticamente el preparado enzimático Lallzyme EX no tuvo ningún efecto significativo en ninguna de las variables relacionadas a los parámetros de color analizados en la maduración.

Sin embargo pese al no existir diferencias estadísticas, se puede observar que los tratamientos enzimados con Lallzyme EX: a_0b_1 y a_0b_2 incrementaron la extracción de antocianos monoméricos totales en un 13,78% y 16,70% respectivamente, con relación al tratamiento testigo a_0b_0 .

Medidas de la riqueza polifenólica

De acuerdo a la tabla A3, se determina que el índice de polifenoles totales, se halla en un rango de 41,25 a 45,62. En la determinación de polifenoles totales se registró un valor de 1207,1 a 1287,4 (mg ácido gálico/litro). Los resultados obtenidos en las medidas de IPT y PT permiten identificar que los vinos de mora son ricos en compuestos fenólicos, especialmente elagitaninos.

Los vinos tintos de uva tienen valores medios de 40-50 de IPT y 2500-3500 de PT [22]. Teniendo en cuenta que los vinos de uva son "100% fruta", y los vinos de mora elaborados son de aproximadamente un "30-35% fruta", los valores registrados en estas medidas de color (IPT y PT) son considerables.

Análisis sensorial

Se aplicó una prueba de aceptación de escala hedónica, en donde las variables color, acidez, astringencia y apreciación global registraron diferencias significativas para los dos factores. De tal forma que los vinos mejor valorados fueron los tratados tras la fermentación (Lallzyme C- MAX) con la dosis de 0,0025 g/litro vino, siendo el mejor tratamiento a_1b_2 .

En el mejor tratamiento se determinó:

- Análisis microbiológico

Se estableció que no existe presencia de aerobios totales, mohos y levaduras; y coliformes totales en los vinos

- Análisis cromatográfico (Tabla A11)

Esteres.- De acuerdo al contenido de acetato de metilo y etilo, se observa que los tratamientos a_0b_0 (testigo) y a_1b_2 (enzimado con Lallzyme C-MAX), poseen un contenido similar de ésteres; en consecuencia se determina que el efecto de Lallzyme C-MAX no influye notoriamente en el desarrollo del bouquet del vino.

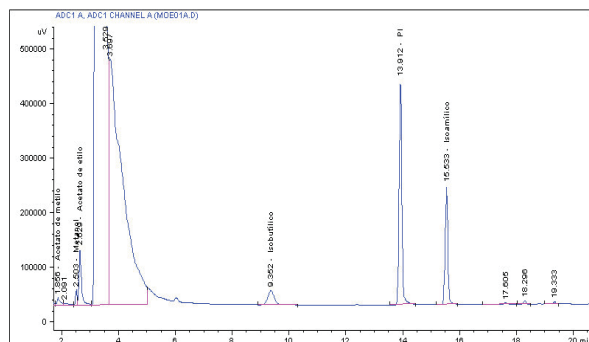
Metanol.- El contenido de metanol en los tratamientos a_0b_0 y a_1b_2 fue de 169,5 y 190,8 (mg metanol por litro de alcohol anhidro) respectivamente, por lo tanto el vino enzimado con Lallzyme C-MAX posee mayor contenido de metanol, por lo que es evidente que este tratamiento enzimático degradó mayor cantidad de pectina en comparación con el vino testigo.

De acuerdo a Carbonell (1970), en los vinos fermentados con los orujos puede encontrarse hasta 0,5 gramos por litro de metanol [5]. Estos valores son inferiores a lo reportado por este autor.

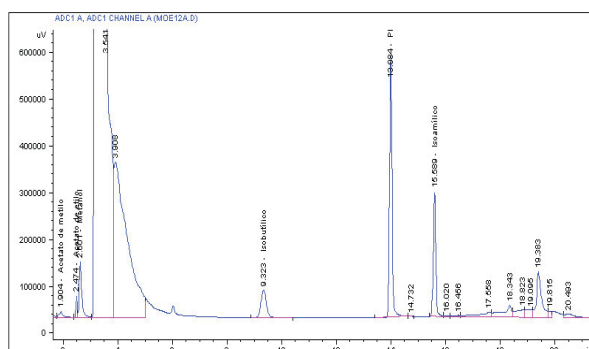
Alcoholes superiores.- En el vino enzimado con Lallzyme C-MAX el contenido de alcohol isoamílico (216,8 mg/l) es inferior en comparación con el vino testigo (233,2 mg/l); por lo tanto el efecto de Lallzyme C-MAX influye favorablemente en el desarrollo del bouquet del vino, al disminuir el contenido de alcohol isoamílico cuyo efecto aromático es juzgado como desagradable.

Los valores de alcoholes superiores en ambos tratamientos se encuentran dentro de los límites citados por Ribéreau- Gayon *et al.* (2003) [21].

CROMATOGRAMA 1. Compuestos volátiles mayoritarios (mg/l) del tratamiento $a_0b_0R_1$ en vino de mora (*Rubus glaucus* Benth), durante la maduración.



CROMATOGRAMA 2. Compuestos volátiles mayoritarios (mg/l) del tratamiento $a_1b_2R_2$ en vino de mora (*Rubus glaucus* Benth), durante la maduración.

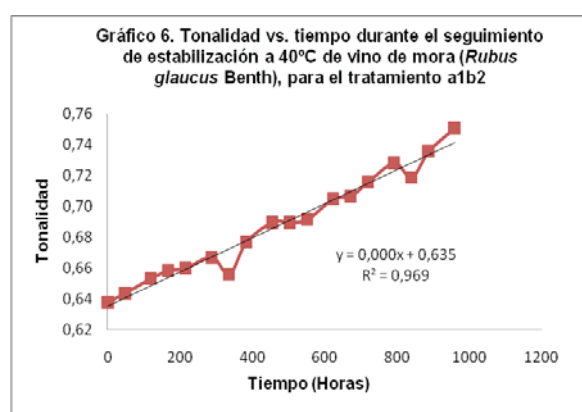
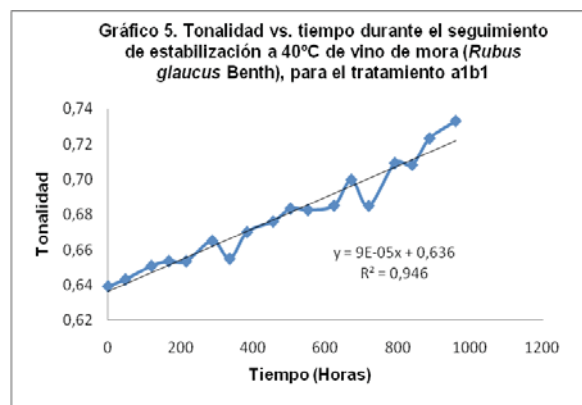


- **Análisis de estabilidad de los mejores tratamientos a_1b_2 (Lallzyme C- MAX; 0,0025 g/l vino) y a_1b_1 (Lallzyme C- MAX; 0,0013 g/l vino)**

Por razones prácticas un vino estable no mostrará cambios físicos u organolépticos no deseables en condiciones normales (almacenamiento en botella) durante un tiempo razonable.

Para la determinación de la estabilidad del vino de mora se utilizó la tonalidad (T) como parámetro indicativo para observar los respectivos cambios provocados por el ascenso de temperatura del medio (40°C / 40 días), ambos gráficos (5 y 6) cuyo coeficiente de correlación es alto, tienen una relación directamente proporcional con el tiempo.

Es decir que al transcurrir el tiempo la tonalidad se incrementa, debido a que el vino expuesto a 40°C experimenta la oxidación de los compuestos fenólicos, principalmente de los antocianos monoméricos.



- Determinación del grado alcohólico

El grado alcohólico del mejor tratamiento (a_1b_2) es de 13,4 °GL y del tratamiento testigo (a_0b_0) es 14,4 °GL, siendo evidente que la producción de alcohol por parte de esta levadura vínica es importante.

De acuerdo a la Norma INEN 374, los valores de grado alcohólico para un vino de frutas varía en un rango de 8 a 18 °GL [14]; por lo tanto los vinos elaborados poseen un grado alcohólico que está bajo dicha norma de calidad.

- Rendimiento del vino de mora

El vino enzimado con Lallzyme EX posee un rendimiento del 51,25%, el vino obtenido con el tratamiento enzimático Lallzyme C- MAX un rendimiento del 56,25% y en el vino elaborado sin tratamiento enzimático un rendimiento del 41,47 %, es decir que los vinos enzimados poseen mayor rendimiento.

CONCLUSIONES

Al elaborar vino de mora (*Rubus glaucus* Benth) con la adición de enzimas pectolíticas comerciales Lallzyme EX y Lallzyme C-MAX, se obtuvieron vinos cuyos datos de °Brix, pH, acidez total, grado alcohólico y extracto seco se encuentran dentro de los límites

legales para la elaboración de vinos; además el análisis cromatográfico señaló que el tratamiento enzimado con Lallzyme C-MAX influye favorablemente en el desarrollo del bouquet del vino, ya que éste posee menor cantidad de alcohol isoamílico (efecto aromático desagradable) en comparación con el tratamiento testigo.

En lo referente al análisis espectrofotométrico los tratamientos elaborados muestran tendencias en la evolución de los parámetros de color similares a un vino tinto.

De acuerdo al análisis físico químico (extracto seco y turbidez), y sensorial se estableció que la mejor concentración de adición de enzima pectolítica Lallzyme C-MAX fue la dosis máxima (0,0025 g/litro vino); ya que con esta dosis se obtuvieron vinos con menor turbidez y menor contenido de extracto seco, proporcionando un color más agradable y la reducción del tiempo de clarificación del vino elaborado.

En base al estudio de costos de producción del mejor tratamiento de vino de mora, se obtuvo un precio de venta al público de 2,97 dólares, el mismo que representa un valor competitivo en el mercado.

En lo referente al análisis microbiológico se determinó que no existe presencia de microorganismos, tales como aerobios totales, mohos y levaduras; y coliformes totales, por lo tanto el vino de mora elaborado está exento de contaminación microbiana y es apto para el consumo.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda la utilización del preparado enzimático Lallzyme C-MAX en una dosis de 0,0025 g/litro vino, en la elaboración de vino de mora, ya que dicho preparado mejora la clarificación, el rendimiento y el bouquet del vino; de esta manera se obtendrán vinos clarificados en menor tiempo y con características organolépticas aceptables, incrementando de esta manera los ingresos económicos de las empresas que elaboran este tipo de vinos frutales.

Se recomienda utilizar los residuos de mora desechados en los trasiegos, como materia prima para la extracción de aceite crudo.

AGRADECIMIENTO

Al proyecto: Potenciación y Mejora de la Producción de Vinos de Frutas de la Asociación de Mujeres Campesinas "ALBORADA" de la Comunidad Santa Rosa (Cantón Ambato, Provincia de Tungurahua, Ecuador). Elaborado conjuntamente con la Universidad Pública de Navarra a través de su "Plan de Acciones de Cooperación Universitaria al Desarrollo 2008" y

financiado por la Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo (AECID).

A la Universidad Técnica de Ambato- Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos a través de la Unidad Operativa de Investigación en Tecnología de Alimentos (UOITA), por su constante apoyo en el desarrollo del presente estudio.

BIBLIOGRAFÍA

Citas bibliográficas

ALVARADO Juan de Dios. 1996. "Principios de Ingeniería Aplicados a Alimentos", Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Universidad Técnica de Ambato, Ecuador.

AMERINE, M. A. y OUGH C. S. 1976. "Análisis de vinos y mostos". Editorial ACRIBIA, S.A. Zaragoza-España. Pág.18

ARZOBARAZ, Iñigo. 2007. "Seminario internacional - Tecnología para la elaboración de vinos de frutas". Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos Universidad Pública de Navarra.

CABRERA, J y VELASCO, M. (1989). "Elaboración de vino a partir de manzana, pera, piña y mora a escala piloto". Tesis previa a la obtención del título de Ingeniero en Alimentos. FCIAL- UTA. Ambato-Ecuador. Pág. 50.

CARBONELL, Mateo. 1970. "Tratado de viticultura-Anexo sobre vinagres". Editorial AEDOS. Barcelona-España. Págs.35-53

Catálogo LALLEMAND, 2009. Madrid- España.

GAMBOA, M. (2003). "Utilización de preparados enzimáticos en la producción de vino de mora (*Rubus glaucus* Benth)". Tesis previa a la obtención del título de Ingeniero en Alimentos. FCIAL- UTA. Ambato-Ecuador. Págs. 97-98

GARCÍA, D. *et al.* 2003. "Características físico-químicas y composición de ácidos grasos del aceite crudo extraído de residuos de mora (*Rubus glaucus* Benth)". Universidad Simón Rodríguez, Ingeniería de Alimentos, Laboratorio de Biomoléculas, Núcleo Canoabo, estado Carabobo, República Bolivariana de Venezuela. Vol. 54. Fasc. 3, 259-263

GIUSTI MM, WROLSTAD RE. 2001. Anthocyanins: Characterization and measurement with UV-visible spectroscopy. In: Wrolstad, RE, editor. Current protocols in food analytical chemistry. New York: John Wiley and Sons. F1.2:1-13.

GONZÁLEZ del POZO A., NAVARRO M., ARZOBARAZ I., CASP A. 2007. "Tratamientos de micro-oxigenación a escala industrial. Influencia sobre el color de un vino tinto tras seis meses de envejecimiento en botella y en barrica", en *Avances en*

Ciencias y Técnicas Enológicas. Editado por la Junta de Extremadura, p. 426-428.

MORENO, M. 2008. "Estudio comparativo de vinos de origen ecológico y convencional con D.O. Navarra". Memoria de investigación efectuada para optar a la superación de la prueba de suficiencia investigadora en el programa de doctorado Tecnología y Calidad en las Industrias Agroalimentarias. Departamento de Tecnología de Alimentos. Pamplona- España. Págs. 14-20.

Norma INEN 346 AL 04.02-307. "Determinación de extracto seco en vinos".

Norma INEN 360 AL 04.02-321. "Determinación de grado alcohólico en vinos".

Norma INEN 374 AL 04.01-403. "Especificaciones del vino de frutas".

OIV Resolución OENO 4/2000. Turbidez de los vinos.

OLIVERO, Rafael. 2006. "Optimización del proceso de clarificación en la elaboración de vino de naranja criolla (*Citrus sinensis*)". Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requisitos para el grado de Maestro en Ciencias en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Puerto Rico. Págs. 2- 4- 252

PEINADO, Rafael. *et al.* 2004. "Gas Chromatographic Quantification of Major Volatile Compounds and Polyols in Wine by Direct Injection", en Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 52, N°. 21. Córdoba- España.

Proyecto: Potenciación y Mejora de la Producción de Vinos de Frutas de la Asociación de Mujeres Campesinas "ALBORADA" de la Comunidad Santa Rosa (Cantón Ambato, Provincia de Tungurahua, Ecuador). 2009.

RANKINE, Bryce. 1989. "Manual práctico de enología". Editorial ACRIBIA, S.A. Zaragoza-España. Pág.336

REVENTOS, Pablo. 1960. "Guía Práctica del Comerciante en Vinos". Editorial Sintet. Segunda edición. Barcelona- España.

RIBÉREAU- GAYON y otros. 2003. "Tratado de Enología 1. Microbiología del vino. Vinificaciones". Editorial Hemisferio Sur S.A.

RIBÉREAU- GAYON. 1970. "Tratado de Enología- Ciencias y Técnicas del Vino. Análisis y Control de los Vinos". Editorial Hemisferio Sur S.A. Primera edición. Buenos Aires- Argentina. Págs. 39- 445.

RIBÉREAU-GAYON J, RIBÉREAU-GAYON P, PEYNAUD E, SUDRAUD P. 1982. *Sciences et techniques du vin. Tomo I: Analise et contrôle des vins*. Ed Dunod.

SOMERS y EVANS, 1977. TC Somers y Evans ME, "La evaluación espectral de los vinos tintos jóvenes:

equilibrios antocianos, polifenoles totales, libre y moleculares de SO₂, edad química", Diario de la Ciencia de la Alimentación y la Agricultura 28 (1977)

Unión Europea. Reglamento (CEE) N° 2676/90 de la comisión de 17 de septiembre de 1990, por el que se determinan los métodos de análisis comunitarios aplicables en el sector del vino (DO L 272.3.10.1990)

VASCO C., RIIHINEN K., RUALES J., KAMAL-ELDIN A. 2009. "Phenolic Compounds in *Rosaceae* Fruits from Ecuador". *J. Agric. Food Chem*, 57, 1204–1212

VINE, Richard. 1981. "Commercial Winemaking Processing and Controls". AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut. Pág. 365

WATERHOUSE, L. 2001. "Determination of total phenolics". In: Wrolstad RE, Acree TE, An H, Decker EA, Penner MH, Reid DS, Schwartz SJ, Shoemaker CF, Sporns P, editors. Current protocols in food analytical chemistry. 1st ed.New York: JohnWiley & Sons, Inc. p I1.1.1– I1.1.8.

ZHAO, Yanyun. 2007. "Berry Fruit. Value- Added Products for Health Promotion." Imprint of Taylor & Francis Group. London- New York. Págs. 66- 106-114

Webgrafía

INIAP/DICYT. "Nuevas tecnologías para el cultivo de mora". Obtenido on line en <http://www.dicyt.com/noticias/nuevastecnologiaspara-el-cultivodemora> (Revisado 07/03/09).

JARRÍN, M. "El vino y su cultura en el Ecuador". Obtenido on line en <http://www.newsweek.com.ec/newsweekarticulos.htm> Por: María Cristina Jarrín (Revisado 11/03/09).

Microbiology Products Laboratoires 3M Santé. "Guía de Interpretación 3M Petrifilm™". Obtenido on line en <http://www.3M.com/microbiology> (Revisado 01/03/10)

ANEXO A

Tabla A1. Parámetros de color de vino de mora (*Rubus glaucus Benth*) registrados durante el proceso de fermentación.

Tratamiento	PPC		IC		T		WC	
	Tiempo (h)		Tiempo (h)		Tiempo (h)		Tiempo (h)	
	0	648	0	648	0	648	0	648
a ₀ b ₀ R ₁	0,217	0,318	5,22	3,90	0,41	0,48	3,69	2,63
a ₀ b ₀ R ₂	0,213	0,384	6,07	4,95	0,41	0,46	4,31	3,39
Promedio	0,215	0,351	5,65	4,43	0,41	0,47	4,00	3,01
a ₀ b ₁ R ₁	0,102	0,342	4,80	3,15	0,37	0,51	3,50	2,08
a ₀ b ₁ R ₂	0,128	0,432	6,75	4,52	0,37	0,49	4,93	3,03
Promedio	0,115	0,387	5,78	3,84	0,37	0,50	4,22	2,56

$a_0b_2R_1$	0,106	0,346	6,22	4,75	0,36	0,48	4,58	3,21	4,47	2,86	2,31	10,78	189,53	141,94
$a_0b_2R_2$	0,321	0,418	7,97	4,92	0,40	0,46	5,71	3,37	5,39	2,95	5,62	12,40	217,09	161,14
Promedio	0,214	0,382	7,10	4,84	0,38	0,47	5,15	3,29	4,93	2,91	3,97	11,59	203,31	151,54
$a_1b_0R_1$	0,186	0,467	7,13	4,56	0,39	0,47	5,12	3,11	4,93	2,64	3,63	15,02	229,61	142,78
$a_1b_0R_2$	0,220	0,404	6,19	5,31	0,39	0,43	4,44	3,71	4,22	3,31	4,95	10,89	235,45	153,63
Promedio	0,203	0,436	6,66	4,94	0,39	0,45	4,78	3,41	4,58	2,97	4,29	12,95	232,53	148,20
$a_1b_1R_1$	0,198	0,437	6,62	5,48	0,39	0,43	4,75	3,82	4,55	3,38	4,17	11,44	230,44	152,79
$a_1b_1R_2$	0,163	0,388	5,82	4,35	0,40	0,49	4,17	2,92	4,01	2,53	3,91	13,29	161,98	120,23
Promedio	0,181	0,413	6,22	4,92	0,39	0,46	4,46	3,37	4,28	2,96	4,04	12,36	196,21	136,51
$a_1b_2R_1$	0,138	0,380	4,72	4,43	0,39	0,51	3,40	2,93	3,26	2,55	4,06	12,97	182,02	142,78
$a_1b_2R_2$	0,142	0,439	6,83	3,94	0,38	0,56	4,95	2,53	4,81	2,09	2,87	17,35	216,25	142,78
Promedio	0,140	0,410	5,78	4,19	0,38	0,53	4,18	2,73	4,04	2,32	3,46	15,16	199,13	142,78

Tabla A2. Variaciones de extracto seco (g/1000ml) registradas durante la maduración de vino de mora (*Rubus glaucus Benth.*).

Tratamiento	TIEMPO (Horas)				
	0	360	720	1080	1440
$a_0b_0R_1$	15,80	15,77	15,76	15,74	15,75
$a_0b_0R_2$	17,22	17,22	17,24	17,24	17,23
Promedio	16,51	16,50	16,50	16,49	16,49
$a_0b_1R_1$	16,45	16,44	16,42	16,46	16,45
$a_0b_1R_2$	17,33	17,36	17,36	17,34	17,35
Promedio	16,89	16,90	16,89	16,90	16,90
$a_0b_2R_1$	17,36	17,34	17,32	17,35	17,34

$a_0b_2R_2$	16,46	16,47	16,47	16,44	16,45	$a_0b_2R_1$	42,51	1281,2	23,95
Promedio	16,91	16,91	16,90	16,90	16,90	$a_0b_2R_2$	42,76	1293,7	32,70
						Promedio	42,64	1287,4	28,33
$a_1b_0R_1$	16,24	16,25	16,24	16,24	16,23	$a_1b_0R_1$	40,77	1227,6	21,15
$a_1b_0R_2$	15,24	15,21	15,22	15,22	15,23	$a_1b_0R_2$	43,66	1283,9	16,95
Promedio	15,74	15,73	15,73	15,73	15,73	Promedio	42,22	1255,8	19,05
$a_1b_1R_1$	14,36	14,35	14,36	14,34	14,34	$a_1b_1R_1$	49,39	1400,8	12,05
$a_1b_1R_2$	15,89	15,89	15,86	15,87	15,87	$a_1b_1R_2$	41,85	1173,2	16,15
Promedio	15,13	15,12	15,11	15,11	15,11	Promedio	45,62	1287,0	14,10
$a_1b_2R_1$	13,99	13,96	13,97	13,99	13,98	$a_1b_2R_1$	38,66	1122,3	15,10
$a_1b_2R_2$	14,36	14,37	14,35	14,32	14,34	$a_1b_2R_2$	44,37	1375,8	16,75
Promedio	14,18	14,17	14,16	14,16	14,16	Promedio	41,51	1249,1	15,93

Tabla A3. Medidas de la riqueza polifenólica y turbidez calculadas a los 2 meses de la maduración de vino de mora (*Rubus glaucus Benth.*).

Tratamiento	IPT*	PT* (mg ácido gálico/ litro)	Turbidez* (NTU)
$a_0b_0R_1$	41,49	1238,3	11,75
$a_0b_0R_2$	42,92	1302,6	18,40
Promedio	42,20	1270,5	15,08
$a_0b_1R_1$	39,70	1149,9	17,95
$a_0b_1R_2$	42,79	1264,2	29,65
Promedio	41,25	1207,1	23,80

Tabla A4. PPC de vino de mora (*Rubus glaucus Benth*) registrados durante el proceso de maduración.

Tratamiento	TIEMPO (Horas)				
	0	360	720	1080	1440
$a_0b_0R_1$	0,436	0,476	0,434	0,780	0,928
$a_0b_0R_2$	0,485	0,486	0,670	0,689	0,915
Promedio	0,461	0,481	0,552	0,735	0,922
$a_0b_1R_1$	0,358	0,438	0,493	0,745	0,529
$a_0b_1R_2$	0,515	0,521	0,819	0,824	0,956
Promedio	0,437	0,480	0,656	0,785	0,743
$a_0b_2R_1$	0,509	0,512	0,677	0,771	0,834
$a_0b_2R_2$	0,426	0,510	0,666	0,754	0,967
Promedio	0,468	0,511	0,672	0,763	0,901
$a_1b_0R_1$	0,467	0,510	0,778	0,795	0,867
$a_1b_0R_2$	0,411	0,520	0,593	0,654	0,997
Promedio	0,439	0,515	0,686	0,725	0,932
$a_1b_1R_1$	0,454	0,540	0,630	0,761	0,854
$a_1b_1R_2$	0,515	0,521	0,654	0,664	0,781
Promedio	0,485	0,531	0,642	0,713	0,818
$a_1b_2R_1$	0,521	0,524	0,785	0,878	0,937
$a_1b_2R_2$	0,440	0,561	0,867	0,923	0,975
Promedio	0,481	0,543	0,826	0,901	0,956

Tabla A5. IC de vino de mora (*Rubus glaucus Benth*) registrados durante el proceso de maduración.

Tratamiento	TIEMPO (Horas)				
	0	360	720	1080	1440
$a_0b_0R_1$	3,90	5,14	5,03	5,19	5,19
$a_0b_0R_2$	3,73	6,43	6,38	6,45	6,00
Promedio	3,82	5,79	5,71	5,82	5,60
$a_0b_1R_1$	3,43	4,88	4,79	4,82	4,75
$a_0b_1R_2$	4,32	6,62	6,41	7,02	6,45
Promedio	3,88	5,75	5,60	5,92	5,60
$a_0b_2R_1$	3,78	5,66	5,93	6,09	5,81
$a_0b_2R_2$	4,47	6,98	6,58	6,88	6,48
Promedio	4,13	6,32	6,26	6,49	6,15
$a_1b_0R_1$	4,32	6,10	5,88	6,11	5,68
$a_1b_0R_2$	3,63	6,29	6,54	5,84	5,66
Promedio	3,98	6,20	6,21	5,98	5,67
$a_1b_1R_1$	4,18	6,45	6,45	6,42	6,01
$a_1b_1R_2$	4,18	5,20	5,42	5,41	5,47
Promedio	4,18	5,83	5,94	5,92	5,74
$a_1b_2R_1$	4,05	6,22	6,57	6,49	5,80
$a_1b_2R_2$	4,22	6,51	6,67	6,46	6,34
Promedio	4,14	6,37	6,62	6,48	6,07

Tabla A6. T de vino de mora (*Rubus glaucus Benth*) registrados durante el proceso de maduración.

Tratamiento	TIEMPO (Horas)				
	0	360	720	1080	1440
$a_0b_0R_1$	0,50	0,43	0,51	0,58	0,51
$a_0b_0R_2$	0,39	0,42	0,45	0,48	0,48
Promedio	0,45	0,43	0,48	0,53	0,49
$a_0b_1R_1$	0,65	0,43	0,46	0,46	0,46
$a_0b_1R_2$	0,43	0,45	0,46	0,53	0,52
Promedio	0,54	0,44	0,46	0,50	0,49
$a_0b_2R_1$	0,47	0,43	0,51	0,53	0,52
$a_0b_2R_2$	0,46	0,44	0,49	0,51	0,54
Promedio	0,47	0,44	0,50	0,52	0,53
$a_1b_0R_1$	0,47	0,42	0,48	0,55	0,60
$a_1b_0R_2$	0,46	0,43	0,42	0,50	0,50
Promedio	0,47	0,43	0,45	0,52	0,55
$a_1b_1R_1$	0,43	0,43	0,45	0,48	0,50
$a_1b_1R_2$	0,50	0,48	0,57	0,58	0,55
Promedio	0,47	0,46	0,51	0,53	0,52
$a_1b_2R_1$	0,47	0,44	0,52	0,53	0,51
$a_1b_2R_2$	0,43	0,46	0,52	0,54	0,53
Promedio	0,45	0,45	0,52	0,53	0,52

Tabla A7. WC de vino de mora (*Rubus glaucus Benth*) registrados durante el proceso de maduración.

Tratamiento	TIEMPO (Horas)				
	0	360	720	1080	1440
$a_0b_0R_1$	2,60	3,59	3,34	3,29	3,44
$a_0b_0R_2$	2,68	4,52	4,39	4,37	4,06
Promedio	2,64	4,06	3,87	3,83	3,75
$a_0b_1R_1$	2,08	3,41	3,28	3,30	3,25
$a_0b_1R_2$	3,03	4,56	4,38	4,59	4,25
Promedio	2,56	3,99	3,83	3,95	3,75
$a_0b_2R_1$	2,57	3,95	3,94	3,97	3,81
$a_0b_2R_2$	3,06	4,84	4,43	4,55	4,22
Promedio	2,82	4,40	4,19	4,26	4,02
$a_1b_0R_1$	2,94	4,29	3,96	3,94	3,56
$a_1b_0R_2$	2,48	4,39	4,61	3,90	3,77
Promedio	2,71	4,34	4,29	3,92	3,67
$a_1b_1R_1$	2,93	4,50	4,44	4,33	4,02
$a_1b_1R_2$	2,78	3,51	3,45	3,43	3,53
Promedio	2,86	4,01	3,95	3,88	3,78
$a_1b_2R_1$	2,75	4,33	4,32	4,25	3,83
$a_1b_2R_2$	2,96	4,45	4,40	4,19	4,14
Promedio	2,86	4,39	4,36	4,22	3,99

Tabla A8. AC de vino de mora (*Rubus glaucus Benth*) registrados durante el proceso de maduración.

Tratamiento	TIEMPO (Horas)				
	0	360	720	1080	1440
$a_0b_0R_1$	2,16	3,11	2,91	2,51	2,51
$a_0b_0R_2$	2,20	4,03	3,72	3,68	3,15
Promedio	2,18	3,57	3,31	3,10	2,83
$a_0b_1R_1$	1,72	2,97	2,79	2,56	2,72
$a_0b_1R_2$	2,52	4,04	3,56	3,77	3,29
Promedio	2,12	3,51	3,17	3,16	3,01
$a_0b_2R_1$	2,06	3,44	3,26	3,20	2,98
$a_0b_2R_2$	2,63	4,33	3,76	3,80	3,25
Promedio	2,35	3,88	3,51	3,50	3,11
$a_1b_0R_1$	2,47	3,78	3,18	3,15	2,69
$a_1b_0R_2$	2,07	3,87	4,02	3,25	2,77
Promedio	2,27	3,83	3,60	3,20	2,73
$a_1b_1R_1$	2,48	3,96	3,81	3,57	3,17
$a_1b_1R_2$	2,27	2,99	2,80	2,77	2,75
Promedio	2,37	3,47	3,30	3,17	2,96
$a_1b_2R_1$	2,23	3,81	3,54	3,37	2,89
$a_1b_2R_2$	2,52	3,89	3,53	3,27	3,17
Promedio	2,37	3,85	3,53	3,32	3,03

Tabla A9. CAW (%) de vino de mora (*Rubus glaucus Benth*) registrados durante el proceso de maduración.

Tratamiento	TIEMPO (Horas)				
	0	360	720	1080	1440
$a_0b_0R_1$	16,77	13,26	12,99	23,71	26,98
$a_0b_0R_2$	18,10	10,75	15,26	15,77	22,54
Promedio	17,43	12,01	14,13	19,74	24,76
$a_0b_1R_1$	17,21	12,84	15,03	22,58	16,28
$a_0b_1R_2$	17,00	11,43	18,70	17,95	22,49
Promedio	17,10	12,14	16,86	20,26	19,39
$a_0b_2R_1$	19,81	12,96	17,18	19,42	21,89
$a_0b_2R_2$	13,92	10,54	15,03	16,57	22,91
Promedio	16,86	11,75	16,11	18,00	22,40
$a_1b_0R_1$	15,88	11,89	19,65	20,18	24,35
$a_1b_0R_2$	16,57	11,85	12,86	16,77	26,45
Promedio	16,23	11,87	16,25	18,47	25,40
$a_1b_1R_1$	15,49	12,00	14,19	17,58	21,24
$a_1b_1R_2$	18,53	14,84	18,96	19,36	22,12
Promedio	17,01	13,42	16,57	18,47	21,68
$a_1b_2R_1$	18,95	12,10	18,17	20,66	24,46
$a_1b_2R_2$	14,86	12,61	19,70	22,03	23,55
Promedio	16,91	12,35	18,94	21,34	24,01

Tabla A10. AT (mg/l) de vino de mora (*Rubus glaucus Benth*) registrados durante el proceso de maduración.

Tratamiento	TIEMPO (Horas)				
	0	360	720	1080	1440
$a_0b_0R_1$	144,45	114,39	109,38	121,90	77,65
$a_0b_0R_2$	188,70	161,98	128,58	137,77	86,00
Promedio	166,57	138,18	118,98	129,83	81,82
$a_0b_1R_1$	139,44	132,76	109,38	128,58	95,18
$a_0b_1R_2$	184,52	158,64	139,44	141,94	96,02
Promedio	161,98	145,70	124,41	135,26	95,60
$a_0b_2R_1$	175,34	149,46	116,06	121,90	88,50
$a_0b_2R_2$	177,01	147,79	145,28	139,44	108,54
Promedio	176,17	148,62	130,67	130,67	98,52
$a_1b_0R_1$	168,66	167,82	113,55	121,90	79,32
$a_1b_0R_2$	187,86	156,97	137,77	137,77	98,52
Promedio	178,26	162,40	125,66	129,83	88,92
$a_1b_1R_1$	172,00	166,99	138,60	138,60	111,88
$a_1b_1R_2$	141,94	116,89	94,35	83,49	70,97
Promedio	156,97	141,94	116,47	111,05	91,43
$a_1b_2R_1$	173,67	164,48	132,76	124,41	99,36
$a_1b_2R_2$	165,32	166,15	138,60	127,75	96,02
Promedio	169,49	165,32	135,68	126,08	97,69

Tabla A11. Datos del análisis mediante cromatografía de gases de compuestos volátiles mayoritarios (mg/l) del mejor tratamiento (a_1b_2) y del tratamiento testigo en vino de mora (*Rubus glaucus Benth*), durante la maduración.

Tratamiento	Esteres		Alcoholes superiores			
	Acetato de metilo	Acetato de etilo	Metanol	1-propanol	Isobutilico	Isoamílico
$a_0b_0R_1$	39,0	44,1	166,7	13,3	83,6	239,8
$a_0b_0R_2$	25,5	34,6	172,4	13,9	67,9	226,6
Promedio	32,2	39,3	169,5	13,6	75,7	233,2
$a_1b_2R_1$	32,1	31,3	191,8	22,9	100,0	220,0
$a_1b_2R_2$	28,5	48,8	189,7	23,2	119,9	213,7
Promedio	30,3	40,0	190,8	23,0	109,9	216,8

Elaborado por: Departamento de Tecnología de Alimentos de la Universidad Pública de Navarra.- España, Marzo/ 2010.

ESTUDIO DE LA EVALUACIÓN FÍSICO-QUÍMICA Y FARINOGRÁFICA DE LA HARINA DE TRIGO (*Triticum aestivum*) OBTENIDA EN LOS PASAJES DE MOLIENDA DE LA INDUSTRIA “MOLINOS MIRAFLORES”

EVALUATION STUDY OF THE PHYSICO-CHEMICAL AND FARINO- GRAFIC FLOUR OF WHEAT (*Triticum aestivum*) OBTAINED IN THE PASSAGES OF THE MILLING INDUSTRY “MOLINOS MIRAFLORES”

María José Cazares^{1,2}, Héctor Recalde², Mayra Paredes¹

¹ Universidad Técnica de Ambato, Ingeniería en Alimentos, Unidad Operativa de Investigación de Tecnología de Alimentos (UOITA), Campus Académico Huachi. Av. Los Chasquis y Río Payamino. Ambato - Ecuador

² Molino Miraflores, Laboratorio de Control de Calidad, Perez de Anda 114 y Av Miraflores. Ambato - Ecuador
miauma47@yahoo.es

RESUMEN

La presente investigación consistió en identificar los factores que influyen en la calidad de la harina de trigo (*triticum aestivum*) como son: las características físico-químicas (porcentaje de gluten, cenizas, humedad y almidones dañados) y farinográficas (absorción de agua, tiempo de amasado, tiempo de estabilidad, índice de tolerancia, grado de decaimiento a los 10 y 20 minutos) que son obtenidas de 15 pasajes de molienda de la industria “MOLINOS MIRAFLORES”. El propósito de este estudio es mejorar la calidad de la harina panadera. Mediante la aplicación de gráficos de control de los factores de calidad se identificó el pasaje problema, siendo éste el pasaje de molienda H, su eliminación logró la mejora esperada. Las muestras de trigo utilizadas para la experimentación fueron: 100% Canadian red wheat spring (CRWS), 100% Hard red Winter (HRW) y una mezcla 90-10 (90% CRWS -10% HRW). Para evaluar la calidad del pan se realizó un análisis sensorial en el que se aplicó un diseño experimental de un factor entre las muestras: Harina 1^o muestra testigo: harina de trigo obtenida por molienda antes de eliminar el pasaje H, Harina 2^o muestra de prueba: harina que se ha obtenido después de eliminar el pasaje H. Según la norma INEN 530 los resultados obtenidos mostraron una mejora panadera sorprendente y esto fue corroborado los resultados físico-químicos y farinográficos.

Palabras Claves: características físico-químicas, evaluaciones farinográfica, molienda, gráficos de control, pasajes de molienda.

ABSTRACT

The present investigation was to identify factors that influence the quality of wheat (*Triticum aestivum*) as: physical and chemical characteristics (percentage of gluten, ash, moisture and damaged starch) and farinaceous (absorption of water, time kneading time of stability, tolerance index, degree of decay at 10 and 20 minutes) which are obtained by 15 passages milling industry “MOLINOS MIRAFLORES.” The purpose of this study is to improve the quality of bread flour. By applying control charts quality factors passage problem was identified, which is the grinding passage of H, elimination achieved the expected improvement. The wheat samples used for experimentation were: 100% Canadian spring wheat network (CRWS), 100% Hard Red Winter (HRW) and a 90-10 mixture (90% -10% CRWS HRW). To assess the quality of bread sensory analysis was performed in which an experimental design was applied to a factor of samples: control sample 1 or flour: wheat flour obtained by grinding before deleting the passage H, Flour 2nd test sample: flour is obtained after deleting the passage H. According to the standard 530 INEN results showed improved baking and this was surprising results corroborating physical-chemical and farinográficos.

Key words: physical and chemical characteristics, farinaceous characteristics, milling process

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial el trigo es uno de los tres cereales más producidos, junto con el maíz y el arroz, y a su vez, el más consumido por los países. El grano de trigo es utilizado para hacer harina blanca, harina integral, sémola, y una gran variedad de productos alimenticios como: pan, galletas, tortas, pastas. Además los subproductos son destinados a la alimentación animal y se utiliza en la industria de cerveza, licores, papel y gomas o como semilla.

Según el proyecto SICA-BM/MAG-Ecuador (2006), la producción nacional de trigo es cada vez menor, situación que ha generado la tendencia opuesta de producción y consumo impulsando la importación de trigo en cantidades significativas. Esta situación podría deberse a cuatro factores principales que determinan la demanda del trigo como son: el crecimiento demográfico, la urbanización, el aumento de los ingresos y los precios al consumidor. [1].

Según Calderón, et. al (2006), en el estudio de la “Evaluación de Calidad de Diferentes Fracciones de Trigo Obtenidas en los Distintos Pasajes del Proceso de Molienda”, la molienda de trigo es un proceso complejo que implica diferentes pasajes que están diseñados para optimizar la calidad del producto final. El conocimiento de las características fisicoquímicas como de cada fracción: Roturas (R), Sadores (S), Primeros Lisos (PL), Últimos Lisos (UL) permite optimizar la molienda para mejorar el rendimiento y calidad de las mismas. Por lo tanto el conocimiento de la composición y naturaleza de las proteínas presentes en cada fracción permite ajustar las condiciones de molienda para ser utilizada en diversos alimentos a base de trigo.

Debido a la demanda existente de harina de trigo para realizar productos de panadería y pastelería se ha visto la necesidad de estudiar maneras adecuadas para crear un tipo de harina de mejores características panarias a la que se produce actualmente en la industria “MOLINOS MIRAFLORES”. Por tal situación, para obtener una harina panadera de buena calidad se evaluó las características físico-químicas y farinográficas de la harina de trigo (*Triticum aestivum*) obtenida en los pasajes de molienda de la industria “MOLINOS MIRAFLORES”.

MATERIALES Y MÉTODO

Materiales

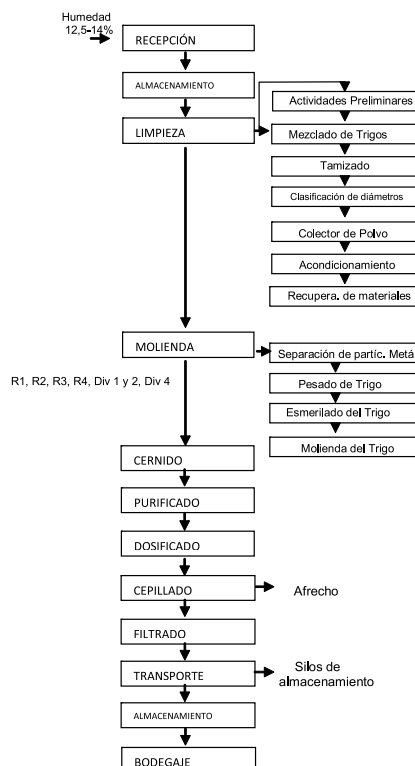
Las muestras utilizadas para la experimentación fueron: 100% Canadian red Wheat Spring (CRWS), 100% Hard

red Winter (HRW) y una mezcla 90-10 (90% CRWS -10% HRW)

Métodos

La investigación se ejecutó en el laboratorio de Control de Calidad de la Industria Molinos Miraflores y en la Unidad de Investigación en Tecnología de Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato. El diagrama de flujo del proceso de molienda se muestra a continuación:

Diagrama de flujo del proceso de elaboración de harina de trigo



Diseño experimental.

Para el análisis sensorial se aplicó un diseño experimental de un factor, para comparar los “tratamientos” experimentales siguientes:

- Harina 1, harina de trigo obtenida por molienda antes de identificar las causas asignables (Testigo).
- Harina 2, harina producto de controlar las causas asignables del proceso de molienda (Prueba).

Parámetros de control de evaluaciones de la harina de trigo (*Triticum aestivum*)

El porcentaje de humedad método realizado según la norma INEN 1235

El porcentaje de Cenizas método realizado según norma INEN 520

El porcentaje de Gluten método realizado según norma INEN 529

Farinografía método realizado según el manual del farinógrafo (Manual Brabender): Estabilidad, Absorción de Agua, Tiempo de Desarrollo, Índice de Tolerancia, Grado de Decaimiento a los 10 y 20 minutos.

El porcentaje de Almidón Dañado método realizado según Medcalf y Gilles, Chopin

Ensayos de Panificación método realizado según norma INEN 530

Resultados y Discusión

Análisis Físico-Químicos

Análisis de Gluten

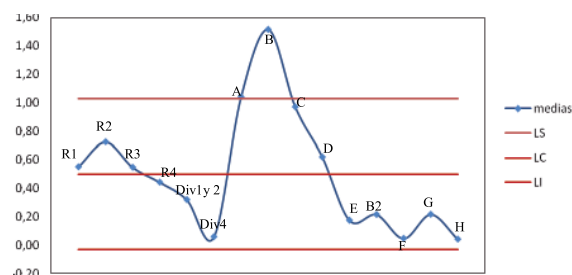


Gráfico N°1: grafico de control de la cantidad de gluten aportado por cada pasaje de molienda (kg/min).

En el Gráfico N°1., se muestra el grafico de control de la cantidad de gluten aportado por cada pasaje de molienda (kg/min). El pasaje H se muestra con un promedio mínimo de 0,04kg/min y el pasaje B (pasaje de compresión del proceso de molienda de trigo) un máximo de 1,52kg/min a la harina final. Las harinas obtenidas en los primeros pasajes de molienda proceden del interior del endospermo y tienen una alta porción de glutenina y gliadina lo que indica que posee una mejor calidad y por lo tanto brinda a la harina final mayor cantidad de gluten como es el caso del pasaje B, lo que concuerda con resultados presentados por otros autores [2], en cambio con el último pasaje de compresión del proceso de molienda (H) presentan contenidos más bajos de gliadina y glutenina debido a que dicho producto proviene de la parte externa del grano que es rica en enzimas.

Análisis de Cenizas.

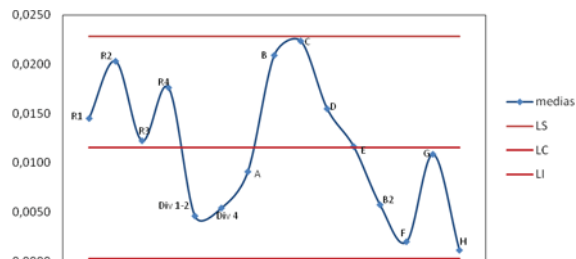


Gráfico N°2: grafico de control de la cantidad de cenizas aportado por cada pasaje de molienda (kg/min)

En el Gráfico N°2., se muestra el grafico de control de la cantidad de cenizas aportado por cada pasaje de molienda (kg/min), en donde se indica al pasaje H como el pasaje con promedio mínimo de 0,0011kg/min y el pasaje C un máximo de 0,022kg/min. Este resultado se debe a que en las primeras etapas del proceso de molienda existe mayor cantidad de producto para procesar y siendo este pasaje C en donde empieza a mezclarse con un porcentaje de afrecho produce mayor cantidad de cenizas. Algo muy diferente que no sucedió con el pasaje H, por ser el último pasaje.

Análisis de Humedad.

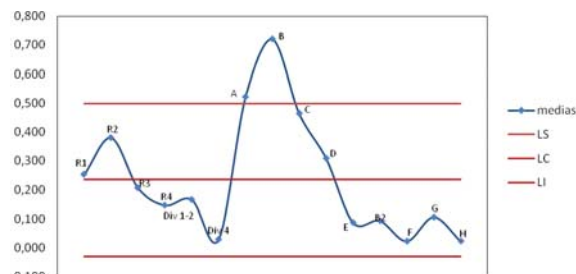


Gráfico N°3: grafico de control de la cantidad de humedad aportado por cada pasaje de molienda (kg/min)

En el Gráfico N°3., se muestra el grafico de control de la cantidad de humedad aportado por cada pasaje de molienda (kg/min), en donde el pasaje F (últimos pasaje de molienda) resultó con promedio mínimo de aporte de 0,022Kg/min y el pasaje B (pasaje de molienda del trigo) un máximo de 0,72Kg/min. Los resultados mostraron que el pasaje B es el pasaje en donde la humedad propia del trigo brota de su interior y se junta con la humedad adicionada en el acondicionamiento, en cambio en el pasaje F la harina se encuentra más purificada y debido al proceso que el producto ha transcurrido existe una evaporación.

Análisis de Almidones Dañados.

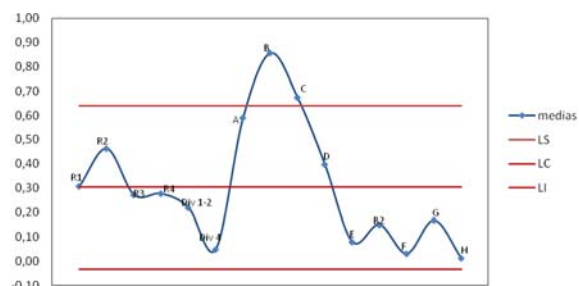


Gráfico N°4: grafico de control de la cantidad de almidones dañados aportado por cada pasaje de molienda (kg/min)

En el Gráfico N°4., se muestra el grafico de control de la cantidad de almidones dañados aportado por cada pasaje de molienda (kg/min), en donde se observa al pasaje de molienda H como promedio mínimo de 0,01Kg/min y al pasaje B con un máximo de 0,86Kg/min. En un diagrama clásico el grado de almidones dañados pueden variar del simple duplicarse al doble entre el primero y último triturador, y triplicarse entre las colas y las cabezas de trituración y compresión [3]. Si tomamos en cuenta el pasaje B tenemos como resultado que brinda mayor porcentaje de almidones dañados debido a que es uno de los pasajes que recibe el producto de mayor trituración en donde se ha ejercido mayor presión al trigo. En cambio, con el pasaje H no ocurre dicha acción, ya que, por ser el último pasaje de molienda no existe mayor presión y por lo tanto brinda poco porcentaje de almidones dañados.

Análisis Farinográfico

Los resultados farinográficos obtenidos muestran una relación con los análisis físico-químicos determinados, donde, muestran que los pasajes que aportan mayor calidad al producto son los primeros entre ellos tenemos: R1, R2, R3, R4, cosa muy distinta a los pasajes de compresión o de cola, ya que por el exceso de compresión y/o purificación del producto este va perdiendo calidad en forma secuencial. Mientras tanto los resultados de los últimos pasajes como tenemos: F, G, H por sus características físico-químicas y examinando el análisis farinográfico nos recalca que existen problemas de calidad.

Estabilidad de la Harina.

Los pasajes de todas las roturas (R1, R2, R3, R4) incluyendo al Div 1 y 2 brindan mayor estabilidad debido a que pertenecen al grupo de iniciación de la molienda, es decir, la harina de primeras roturas. Por lo tanto, presentan las mejores características si hacemos comparación con los otros análisis de farinografía. El Gráfico N°5., muestra la estabilidad que brinda cada pasaje y el comportamiento que tiene cada uno de ellos en el

proceso de molienda, reafirmando los pasajes que aportan mayor calidad panadera a la harina son las primeras roturas, e inclusive supera el límite superior establecido proporcionando un balance de calidad con los últimos pasajes.

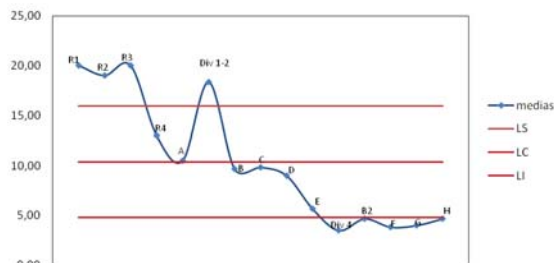


Gráfico N°5: grafico de control de la estabilidad de la harina obtenida por cada pasaje de molienda

Absorción de Agua.

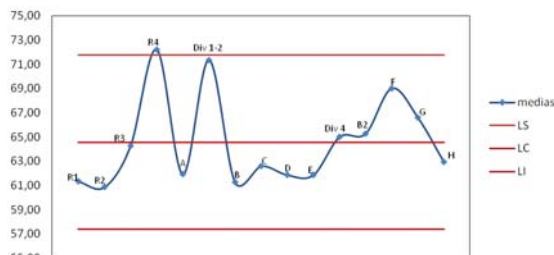


Gráfico N°6: grafico de control del porcentaje de absorción agua de la harina obtenida por cada pasaje de molienda (%).

En el Gráfico N°6., se observa el comportamiento que tiene cada uno de los pasajes con lo que respecta al porcentaje de absorción de agua, en donde solo el pasaje de rotura R4 con un 72,2% de absorción de agua se encuentra fuera del límite superior sin causar daño alguno a la harina final. En cambio los pasajes restantes se encuentran dentro de los límites de aceptación lo cual muestra un porcentaje de absorción de agua aceptable de cada pasaje.

Tiempo de Desarrollo.

Al efectuar un gráfico de control Gráfico N°7., se observa el comportamiento de cada uno de los pasajes de molienda dentro de estándares estadísticos, mostrando que, los primeros pasajes brindan mayor tiempo de amasado a la harina final pero, se encuentran dentro de los límites de tolerancia. Algo muy contrario sucede con el último pasaje H, éste presenta menor tiempo de desarrollo a lo permitido y por la cantidad pobre de componentes que posee, no es beneficioso para la calidad de la harina.

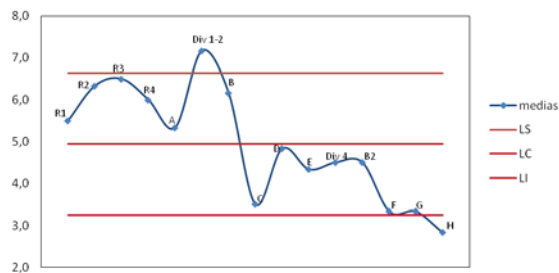


Gráfico N°7: grafico de control del tiempo de desarrollo de la harina obtenida por cada pasaje de molienda (min)

Índice de Tolerancia.

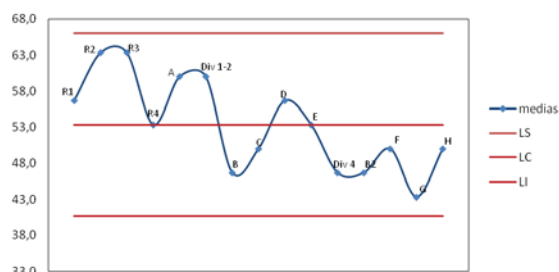


Gráfico N°8: grafico de control del índice de tolerancia de la harina obtenida por cada pasaje de molienda

En el Gráfico N°8., se observa el comportamiento que tiene cada uno de los pasajes con lo que respecta al índice de tolerancia de la harina obtenida por cada pasaje de molienda, dando una tendencia descendente manteniéndose dentro de los límites permitidos. Cabe mencionar que los últimos pasajes son aquellos que persisten en mantenerse a niveles bajos, lo cual confirma que estos pasajes son la causa de la disminución de la calidad de la harina (F, G, H).

Grado de Decaimiento a los 10 minutos.

El Gráfico N°9., muestra el comportamiento que tiene cada uno de los pasajes con lo que respecta al grado de decaimiento a los 10 minutos dándonos una idea clara que, los primeros pasajes poseen poco decaimiento a los 10 minutos y los últimos pasajes decayeron en forma muy rápida. El grado de decaimiento a los 10 minutos afirma que todos los parámetros farinográficos analizados se correlacionan y tienen una tendencia igual al de la estabilidad, en donde mostró que el problema de la disminución de calidad de la harina recae en los últimos pasajes de molienda (F, G, H).

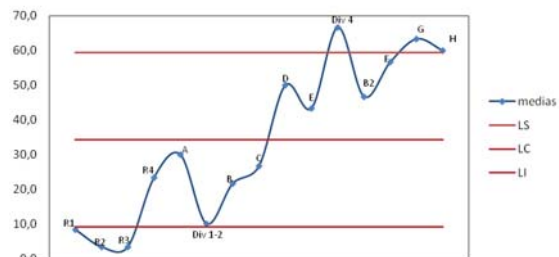


Gráfico N°9: grafico de control del grado de decaimiento a los 10min de la harina obtenida por cada pasaje de molienda (UF)

3.2.6. Grado de Decaimiento a los 20 minutos.

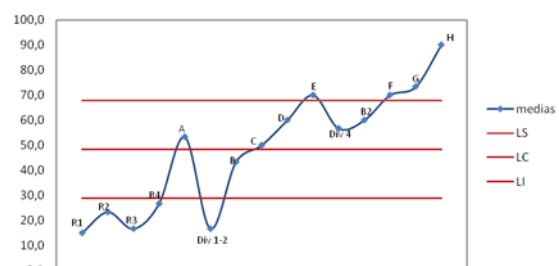


Gráfico N°10: grafico de control del grado de decaimiento a los 20min de la harina obtenida por cada pasaje de molienda (UF)

El Gráfico N°10., muestra el comportamiento que tiene cada uno de los pasajes con lo que respecta al grado de decaimiento a los 20 minutos. Los primeros pasajes poseen un comportamiento estable, contrariamente a los últimos pasajes. Cabe mencionar que el análisis farinográfico muestra el comportamiento de la harina, antes, durante y luego del amasado, por lo tanto, todos los análisis concuerdan que, una solución posible para el mejoramiento de la harina de trigo panadera sería eliminar el pasaje problema, es decir el pasaje H.

Análisis Sensorial, Físico- Químico y Farinográfico de la Harina 2 obtenida en el proceso sin el pasaje H.

Entre los pasajes problema están los pasajes de cola, especialmente el pasaje H. Para tener el criterio si es posible mejorar la calidad de la harina panadera eliminando el pasaje H se procedió a realizar el análisis sensorial panadero de la harina 2 (Prueba) en comparación con la harina 1 (Testigo), corroborando los resultados con los análisis físico-químicos y farinográficos.

Para el análisis sensorial se realizaron cataciones a 12 panelistas que calificaron según la norma INEN 530, donde un pan ideal reúne máximo 100 puntos. Dando como resultado que la muestra testigo posee un pro-

medio de 71,67 puntos, lo que en comparación con la calificación de la prueba de 89,17 puntos, fue menor; por tal razón nos brinda un entendimiento que el pan de prueba fue mejor que el testigo

Para sustentar los resultados panaderos se efectuaron análisis físico-químicos de la harina 2, obteniendo como resultados: porcentaje de Gluten Húmedo: 28,35%; porcentaje de Cenizas; 0,66%; porcentaje de Humedad: 13,34%; porcentaje de Almidones Dañados: 17,28%.

Igualmente se realizó análisis farinográficos dando como resultados: Tiempo de Desarrollo: 5,5 min; Estabilidad: 12,50 min; Índice de Tolerancia: 60 UF; Grado de Decaimiento a los 10 min: 20 UF; Grado de Decaimiento a los 20 min: 50 UF.

Al comparar los resultados físico-químico y farinográfico obtenidos de la muestra testigo Harina 1 y la muestra de prueba Harina 2 podemos mencionar que existió una mejoría en todo sentido.

CONCLUSIONES

Los resultados de la determinación de las propiedades físico-químicas y farinográficas de cada pasaje de molienda mostraron que los primeros pasajes de molienda brindan a la harina final mejor calidad y cantidad de componentes, mientras que en los últimos pasajes sucede lo contrario.

Al haber determinado que la disminución de la calidad de la harina de trigo es causado por las malas características físico-químicas y farinográficas del último pasaje de molienda (H) que aporta a la harina final, se propuso como solución práctica la eliminación de dicho pasaje, el cual al comparar el resultado del análisis panadero harina 1: muestra testigo con la harina 2 muestra de prueba, se observó mejoras en el tamaño de la miga, color de la corteza, volumen, anchura y altura del pan. Dicha prueba además se sustentó con los análisis físico-químicos, dando en todo sentido una mejora a la harina panadera siendo éste el resultado positivo y esperado de toda la investigación.

AGRADECIMIENTOS

Un sincero agradecimiento a la Industria Molinos Miraflores, por el financiamiento del presente proyecto, a la Universidad Técnica de Ambato, a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y a la Unidad Operativa de Investigaciones en Tecnología de Alimentos UOITA por las facilidades brindadas a las diferentes actividades de investigación.

REFERENCIAS

www.sica.gov.ec
Ziegler E y E.N. Greer, 2006 Principles of milling. En: Wheat Chemistry and Technology. Y Promeranz, ed. Am. Assoc. of Cereal Chem.: St Paul.
Calaveras Jesús, 2004 "Nuevo tratado de panificación y bollería, editorial Acribia, cuarta edición.

APLICACIÓN DE UNA TECNOLOGÍA DE ACONDICIONAMIENTO PARA LA ELABORACIÓN DE PAPA PREFRITA CONGELADA TIPO BASTÓN

IMPLEMENTATION OF A TECHNOLOGY OF CONDITIONING FOR THE DEVELOPMENT OF POTATO PREFRYING FROZEN TYPE CANE

Lucía Pazmiño ^c; Mónica Silva Ordóñez ^a; Mario Álvarez Núñez ^a, Milton Ramos Moya ^b

Universidad Técnica de Ambato, ^b Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, ^a Unidad de Investigación en Tecnología de Alimentos. Ambato, Ecuador.

e-mail: mpsilva206@hotmail.com

^c Egresada de la Carrera Ingeniería en Alimentos, Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador.

RESUMEN

Se desarrolló una tecnología de acondicionamiento que permite reducir la actividad de la enzima Polifenoloxidasa (PPO), mejorar el color y mantener una textura aceptable del bastón de papa para la elaboración de papa prefrita congelada tipo bastón. Para ello, se acondiciona con un lavado sucesivo la papa pelada picada, seguido de inmersión en solución 1,5% p/v de Ácido Cítrico y 0,01% p/v de Metabisulfito de Sodio por 30 minutos y la aplicación de escaldado. Se aplicó un diseño experimental de tres factores con sus niveles: A: variedad de papa (I-Fripapa y Única); B: temperatura de escaldado (50, 60 y 70°C) y C: tiempo de escaldado (3, 4 y 5 minutos), cada tratamiento con 3 réplicas (Nivel de significancia del ≤ 0.05). Las respuestas experimentales fueron: constante de velocidad de inactivación de la enzima PPO, color y resistencia a la rotura. El mejor tratamiento (a0b2c2: I-Fripapa escaldada a 70°C por 5 minutos) presentó mayor velocidad de inactivación de la PPO y el tiempo de vida útil calculado fue de 7 meses a -10°C. Las muestras sometidas a un análisis sensorial para conocer el criterio del consumidor, mostraron preferencias altas en los atributos: color, textura y aceitosidad residual para las muestras con acondicionamiento. El análisis de calidad del aceite no presentó diferencias significativas al aplicar el proceso de acondicionamiento. En adición, el proceso de acondicionamiento mejoró las propiedades texturales del bastón luego de fritos, disminuyó el tiempo de fritura final de 8.45 a 6.44 min para I-Fripapa y de 10.07 a 8.54 min para la variedad Única.

Palabras claves: acondicionamiento, papa prefrita, inactivación de enzima Polifenoloxidasa (PPO).

SUMMARY

I was developed a technology of conditioning that makes it possible to reduce the activity of the enzyme Polyphenoloxidase (PPO), to improve the color and maintain a acceptable texture of the baton from potato for the elaboration of potato prefrita frozen type cane. It is conditioned with a wash of the potato peeled minced, followed by immersion in solution 1.5 % p/v of citric acid and 0.01 % p/v sodium metabisulfite for 30 minutes and the application of blanching. It was applied an experimental design of three factors with their levels: A: potato variety (I-Fripapa and Única); B: temperature of blanching (50, 60 and 70 °C) and (C: time of blanching (3, 4 and 5 minutes), each treatment with 3 replicas (significance level of ≤ 0.05). The experimental responses were: constant speed inactivation of the enzyme PPO, color and resistance to breakage. The best treatment (a0b2c2: I-Fripapa scalded to 70 °C for 5 minutes) presented a higher speed of inactivation of the PPO and the time of shelf life calculated was 7 months at -10 °C. The samples subjected to a sensory analysis to know the criteria of the consumer, showed preferences high in these attributes: color, texture and residual aceitosidad for the samples with conditioning. The quality analysis of the oil did not provide significant differences in the implementation of the conditioning process. In addition, the conditioning process improved the textural properties of the cane after fried, decreased the time to frying end of 8.45 to 6.44 min for the variety I-Fripapa; and 10.07 to 8.54 min for the variety Única.

Key words: packaging, pre-frying potato, inactivation of enzyme Polifenoloxidasa (PPO).

INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum*) es un tubérculo que se produce y se consume en todo el mundo, es uno de los diez cultivos alimenticios más importantes debido a su gran valor nutritivo y su capacidad de incrementar los ingresos de las personas que se dedican a su cultivo. Las papas prefritas congeladas son el producto resultante del procesamiento (pelado y cortado en tiras) y fritura parcial de la papa blanca. Además son envasadas y sometidas a un procedimiento de conservación por frío para prolongar su vida útil. Para su consumo final precisan de una fritura adicional y de una salazón.

El consumo de papa en fresco está disminuyendo en muchos países, sobre todo en países en desarrollo y se relaciona con la expansión internacional de los “fast-food” y su incorporación como producto de conveniencia que sustituye a la papa en fresco por productos procesados para satisfacer una demanda en aumento de las industrias de alimentos rápidos, aperitivos y de fácil preparación (Mateos M., 2003). A nivel industrial las procesadoras de hojuelas y bastones se abastece de papa fresca, sin embargo la papa que actualmente demandan las cadenas alimenticias y restaurantes en su mayoría es importada (5.557 t/año 2007) (Gavilanes, M. y Jiménez, J. 2009).

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima: Variedades I-Fripapa y Única, proveniente de la provincia del Tungurahua, Cantón Pillaro de zona de cultivo de bajío a 2.800 m.s.n.m. Categoría Primera, cosechados en estado de madurez maduro, del Consorcio de Productores de Papa. Aceite para prefritura: Trirefinado en fundas de polietileno de baja densidad (LDPE).

Diseño Experimental:

Acondicionamiento lavado sucesivo de la papa pelada y picada, seguido de inmersión en solución: 1,5% p/v de Ácido Cítrico y 0,01% p/v de Metabisulfito de Sodio por 30 minutos y aplicación de escaldado. Se aplicó un diseño experimental de tres factores Variedad de papa (I-Fripapa y Única), Temperatura de escaldado 50, 60 y 70°C y Tiempo de escaldado 3, 4 y 5 minutos. Tratamientos analizados por triplicado.

Las respuestas experimentales fueron: constante de velocidad de inactivación de la enzima PPO, color y resistencia a la rotura.

Métodos de Análisis

Materia Prima

Papas- Requisitos- Norma INEN 1516:1987

Determinación de Humedad- Método 930.15 A.O.A.C. 1996

Determinación de Azúcares Reductores- Lane y Eynon, 1923

Producto semielaborado

Actividad de Polifenoloxidas- Ranganna, 1986

Color- Ott, 1992 y Ranganna, 1986

Resistencia a la rotura- Textura

Determinación de la Actividad Relativa de la PPO

De acuerdo al cálculo de las constantes de velocidad reacción (k), para una cinética de primer orden.

$$k = (1/t) \ln (R1/R2)$$

Siendo: k = constante de velocidad de reacción (s-1), t = tiempo (s), R1 = % de Absorbancia al inicio, R2 = % de Absorbancia en el tiempo t.

El porcentaje de inactivación, según Zambrano et al., (1994). cit. Jiménez, M. et al., (2004).

$$\% \text{ Inhibición: } \Delta \text{muestra} * 100 / \Delta t$$

Producto terminado

Análisis microbiológicos: Recuento Total de Microorganismos Aerobios Mesófilos- NTE INEN 1529- 5:06 Voluntaria AL 01.05-303, *S. aureus*- NTE INEN 1529- 14:98 Voluntaria AL 01.05- 312, Coliformes- NTE INEN 1529- 13:98 Voluntaria AL 01.05- 310, Mohos y Levaduras- NTE INEN 1529- 10:98 Voluntaria AL 01.05- 308.

Análisis sensorial- Hoja de Catación.

Análisis de composición proximal: Humedad- Método 930.15 A.O.A.C. 1996, Ceniza- NTE INEN 0401:79 Voluntaria AL 02.01- 326, Proteína y Grasa total- Métodos de la A.O.A.C, Carbohidratos y Energía (Kcal/100 g).

Resistencia a la rotura y tiempo de fritura final.

Aceite resultante de prefritura

Acidez titulable-Norma INEN 162.

Índice de Peróxido-Norma INEN 277:1978:02.

Ácidos grasos libres a través del “Shortening Monitor 3M”.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de la materia prima:

Calidad externa: Las variedades: I-Fripapa y Única, de acuerdo al diámetro (mm), se clasifican como Tipo Primera, según la clasificación de las Normas Ecuatorianas INEN 1516. Única presenta un buen tamaño, con respecto a I-Fripapa.

Calidad interna: El porcentaje de Sólidos Totales promedio es menor de 22,91% pertenece a Única, y un mayor valor promedio de 23,42% corresponde a I-Fripapa. Mientras que valores promedios de textura menor de

2,02 (kg/sq cm) pertenece a Única, y un valor mayor de 2,15 (kg/sq cm) corresponde a I-Fripapa. Se puede notar que la textura de los bastones tiene relación directa con el contenido de sólidos totales. La variedad I-Fripapa y Única presentan características favorables para su industrialización. Los Azúcares Reductores, el valor promedio menor de 0,11% corresponde a I-Fripapa, y el mayor valor promedio de 0,15% corresponde a Única. Nótese que I-Fripapa contiene el menor porcentaje de azúcares reductores que Única, sin embargo estos valores se hallan dentro de las especificaciones apropiadas para procesamiento (<0,25%).

Análisis del bastón de papa después de acondicionamiento

Análisis de Actividad de la PPO

Las figuras 1 y 2 se observa una representación de la relación Absorbancia (A420nm) vs tiempo (minutos) aplicando tres temperaturas de escaldado y tres tiempos para las dos variedades de papa estudiadas. Nótese en ambos gráficos que a medida que aumenta el tiempo y la temperatura de escaldado, el valor de Absorbancia (A420nm) disminuye, pudiéndose observar una disminución de la actividad de la PPO para las dos variedades estudiadas.

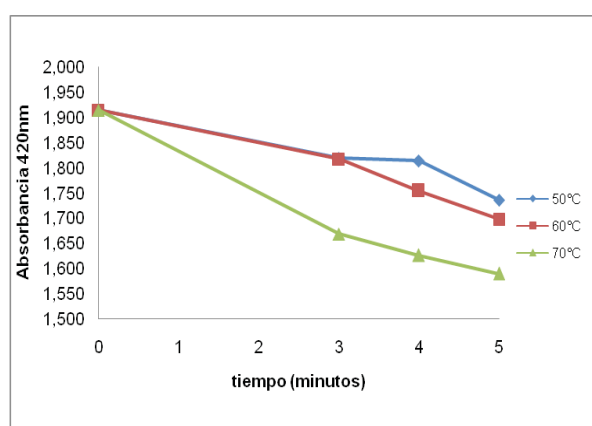


Figura 1. Actividad de la PPO (A420nm) en variedad I-Fripapa

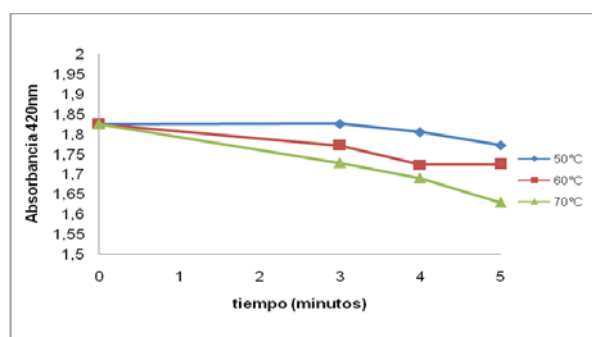


Figura 2. Actividad de la PPO (A420nm) en variedad Única

Los resultados estadísticos de valores de Absorbancia (A420nm) utilizado como referencia para expresar la

actividad de la PPO aplicando un Análisis de Varianza con α : 0,05 de significancia, estableció que existe diferencia significativa entre efectos principales: B (Temperatura), C (Tiempo) y la interacción AB (Variedad/Temperatura). La prueba de Tukey para el factor B (Temperatura), determinó que existe una diferencia significativa al aplicar temperaturas de 50, 60 y 70°C, donde el menor valor de Absorbancia (A420nm) en la actividad de la enzima PPO presentan los bastones de papa sometidos a la temperatura de 70°C. La prueba de Tukey para el Factor C (Tiempo), determinó que existe diferencia significativa al aplicar tiempos de 3, 4 y 5 minutos, donde el tiempo que más contribuye a la disminución de la actividad de la PPO es 5 minutos, y el tiempo que menos contribuye a la disminución de la actividad enzimática es 3 minutos.

Tabla 1. Constante de velocidad de inactivación de la enzima PPO

	Tratamiento	%Inactivación	k (s ⁻¹)
T1	a ₀ b ₀ c ₀	0,053	0,042
T2	a ₀ b ₀ c ₁	0,042	0,032
T3	a ₀ b ₀ c ₂	0,059	0,025
T4	a ₀ b ₁ c ₀	0,054	0,042
T5	a ₀ b ₁ c ₁	0,067	0,030
T6	a ₀ b ₁ c ₂	0,072	0,024
T7	a ₀ b ₂ c ₀	0,136	0,037
T8	a ₀ b ₂ c ₁	0,120	0,028
T9	a ₀ b ₂ c ₂	0,108	0,023
T1	a ₁ b ₀ c ₀	0,001	0,067
T1	a ₁ b ₀ c ₁	0,008	0,039
T1	a ₁ b ₀ c ₂	0,018	0,029
T1	a ₁ b ₁ c ₀	0,030	0,045
T1	a ₁ b ₁ c ₁	0,042	0,032
T1	a ₁ b ₁ c ₂	0,033	0,027
T1	a ₁ b ₂ c ₀	0,054	0,042
T1	a ₁ b ₂ c ₁	0,056	0,031
T1	a ₁ b ₂ c ₂	0,065	0,024

De la Tabla 1 se deduce que, valores bajos de constantes de velocidad (k (s⁻¹)) expresan mayor inactivación de la PPO y valores altos menor inactivación. Nótese que los mejores resultados son los tratamientos: a₀b₂c₂ (I-Fripapa, 70°C, 5 minutos), a₀b₁c₂ (I-Fripapa, 60°C, 5 minutos) y a₁b₂c₂ (Única, 70°C, 5 minutos). Por lo tanto a mayor temperatura y tiempo de escaldado, la velocidad de inactivación se incrementa y por ende la enzima responsable del pardeamiento enzimático se desnaturaliza y pierde su capacidad catalizadora.

Análisis de Color

El Color (A447nm) vs tiempo (minutos) de escaldado en Variedad I-Fripapa y Única respectivamente; luego de escaldado a 3 temperaturas y 3 tiempos, se deduce que a medida que aumenta el tiempo y la temperatura de

escaldado, el valor de Absorbancia (A447nm) aumenta; pudiéndose observar un favorecimiento del color del bastón de la papa en las dos variedades estudiadas.

Análisis de Varianza con α : 0,05 significancia, estableció diferencias significativas entre los efectos principales: A (Variedad), B (Temperatura) y C (Tiempo); interacciones: AB (Variedad/Temperatura), AC (Variedad/Tiempo), BC (Temperatura/Tiempo) y ABC (Variedad/Temperatura/Tiempo); y además se encontraron siete grupos, de los cuales se destaca el Grupo A que corresponde al mejor tratamiento: a0b2c2 (I-Fripapa, 70°C, 5 minutos). En el caso que se desee trabajar con la variedad Única se podrá considerar el tratamiento a1b1c2 (Única, 60°C, 5 minutos).

Análisis de Resistencia a la rotura-Textura (kg/sq cm)
Los resultados estadísticos de los valores de Resistencia a la rotura utilizado como referencia para expresar la textura (kg/sq cm) en variedades I-Fripapa y Única luego de escaldado a tres temperaturas y tres tiempos, y el Análisis de Varianza con α : 0,05 de significancia existe diferencia significativa entre los factores: A (Variedad), B (Temperatura) y C (Tiempo). Pruebas estadísticas de Tukey indican que en el Factor A (Variedad), como mejor tratamiento a a0 (I-Fripapa). Para el Factor B (Temperatura), se deduce que la temperatura que menos afecta a la textura es 50°C, seguido 60°C y la que más afecta es 70°C. Para el Factor C (Tiempo), se observa que al aplicar los tiempos de 3 y 4 minutos las texturas son iguales; mientras que el tiempo de 5 minutos afecta significativamente a la textura de los bastones de papa.

CONCLUSIONES

Se aplicó una tecnología de acondicionamiento para la elaboración de papa prefrita congelada tipo bastón en dos variedades de papa: I-Fripapa y Única. El acondicionamiento constó de cinco lavados sucesivos hasta eliminar el almidón, seguido de inmersión en solución de 1,5% p/v de Ácido Cítrico y 0,01% p/v de Metabisulfito de Sodio por 30 min y aplicación de temperaturas de escaldado de 50, 60 y 70°C por un tiempo de 3, 4 y 5 minutos, para controlar el pardeamiento enzimático.

El mejor tratamiento de acondicionamiento para las variedades I-Fripapa y Única para inactivar enzimas, se logró al aplicar cinco lavados sucesivos, seguido de inmersión en solución 1,5% Ácido Cítrico y 0,01% Metabisulfito de Sodio, y escaldado a temperatura de 70°C por un tiempo de 5 minutos. Se obtuvo una velocidad de inactivación de la enzima PPO en I-Fripapa de 0,023 (s-1) y para Única de 0,024 (s-1), además se notó una mejora en el color y se mantuvo una textura aceptable del bastón.

Para la calidad del aceite resultante de la prefritura se determinó índice de acidez, índice de peróxido y Shor-

tening Monitor 3M, los resultados obtenidos no existió deterioro del aceite después del proceso de prefritura al aplicar los tratamientos de acondicionamiento.

Se determinó el tiempo de vida útil de papa prefrita congelada a través de análisis microbiológicos de los mejores tratamientos, basados en especificaciones microbiológicas establecidas por AVIKO, de esta manera se establece un tiempo de conservación para la papa I-Fripapa con acondicionamiento de 198 días y sin acondicionamiento 123 días; y para la variedad Única con acondicionamiento 201 días y sin acondicionamiento 195 días. Lo que indica que el escaldado permite una reducción de la carga microbiana de la superficie del alimento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albéric, H. 2008 "Informe de Consultoría: Apoyo a la implementación de procesos de generación de valor agregado en el CONPAPA", Ambato, Ecuador
- Arthey, D. y Dennis, C. 1992. "Procesado de Hortalizas". Editorial Acribia. Zaragoza-España, 136-138 p.
- Gavilanes, M. y Jiménez, J. 2009 "Estudio de Mercado de papas fritas en Quito, Guayaquil y Cuenca". Informe de Consultoría para el CONPAPA. Ambato Ecuador. 41 p.
- Guayta, J. Silva M 2006. "Evaluación de la calidad química de los aceites reutilizados en la fritura de papas y salchichas en los Restaurantes del Cantón Ambato" Artículo Técnico. Universidad Técnica de Ambato-FCIAL, Ecuador.
- Jean, A. Jacques, P. y Anme, P. 2000. "Análisis nutricional de los alimentos", Editorial Acribia Zaragoza, España. Páginas: 93
- Jiménez, M. Zambrano, L. y Aguilar, M. 2004 "Estabilidad de Pigmentos en frutas sometidas a tratamientos con Energía de Microondas". Biblioteca digital de la Universidad de Chile, Sistema de Servicios de Información y Bibliotecas. SISIB <http://www.scielo.cl>
- Mateos, M. 2003 "Papa Prefrita Congelada". Instituto Interamericano de Cooperación para la agricultura (IICA-ARGENTINA). <http://www.iica.int>
- Silva, M. y Sarabia, S. 2005 "Control del pardeamiento enzimático en papa frippa (Bulk México 378158721) Variedad INIAP". Proyecto de Investigación. Universidad Técnica de Ambato-FCIAL. Ecuador. <http://fcial.uta.edu.ec>
- Industrialización de la papa en Ecuador. <http://www.iicaecuador.org>
- Villacrés, E., Caba, V. Monteros, C., y Lucero, O. 2003. "Influencia de la materia prima y del proceso sobre la calidad y la vida útil de la PAPA frita, prefrita y precocida en bastones". Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Quito-Ecuador). <http://www.iniap-ecuador.gov.ec>

INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA EN EL DESARROLLO DE ÍNDICES DE CONTROL BASADOS EN PROPIEDADES FÍSICAS PARA RECONOCER LA ADICIÓN DE SUERO RECONSTITUIDO EN LECHE DE VACA

TEMPERATURE INFLUENCE IN THE DEVELOPMENT OF CONTROL INDEXES BASED IN PHYSICAL PROPERTIES TO RECOGNIZE THE ADDITION OF RECONSTITUTED WHEY IN COW MILK

Alvarado, Juan de Dios y Espinel, Erika.

Universidad Técnica de Ambato (UTA)
Centro de Investigación Científica (CENI)
Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos (FCIAL)
Av. Los Chasquis y Río Payamino. Casilla 18-01-334
Ambato - Ecuador

RESUMEN

El trabajo se realizó para conocer el efecto de la adición de distintos porcentajes de suero reconstituido (0, 10, 20, 30, 40 y 50%) en tres tipos de leche (cruda, pasteurizada y UHT) sobre tres propiedades físicas (gravedad específica, viscosidad e índice de refracción) a varias temperaturas entre 5° y 40°C. Las muestras de leche fueron preparadas a los distintos porcentajes de suero (v/v) con 300 [ml] de la muestra testigo, leche sin adición de suero, que sirvió como control.

Se presentan las ecuaciones de regresión lineal que permiten determinar el efecto inverso de la temperatura sobre las tres propiedades físicas indicadas. Los altos valores de los coeficientes de regresión y determinación presentados, próximos a la unidad en todos los casos, indica una asociación muy alta entre las variables.

Se observó que la gravedad específica, la viscosidad y el índice de refracción disminuyen a medida que se incrementa la temperatura y el volumen de suero añadido. En el caso de la gravedad específica, la leche UHT presentó valores superiores a los de la leche cruda y pasteurizada. La viscosidad por ser una propiedad dependiente directamente de la temperatura presentó valores más bajos a 40°C que los registrados a 15°C para los tres tipos de leche. En el índice de refracción se observó que se mantiene la tendencia inversa con relación a la cantidad de suero añadido y que el método utilizado en las muestras (clarificadas y sin clarificar) influye en los resultados.

Los valores del coeficiente volumétrico de expansión térmica presentaron una disminución hasta una adición del 30% de suero en las leches cruda y pasteurizada, a porcentajes mayores de suero la tendencia no se mantiene; en leche UHT no se pudo establecer una tendencia.

Los valores de la constante de Lorentz y Lorenz calculada con los datos del índice de refracción sin clarificación de la muestra, valores promedios a las distintas temperaturas, presentaron una disminución periódica asociada con el incremento en el contenido de suero. Se conoce que el valor de la constante no depende de la temperatura, depende de la composición, por ello se presenta como un indicador de la presencia de suero de queso en la leche, pues la alteración de la composición se ve reflejada con una disminución de los valores conforme aumenta el suero añadido.

Palabras clave: adulteración, leche, suero, propiedades físicas, constante de Lorentz- Lorenz.

SUMMARY

The work was performed to determine the effect of the addition of different percentages of reconstituted cheese whey (0, 10, 20, 30, 40 and 50%) in three types of milk (raw, pasteurized and UHT) over three physical properties (specific gravity, viscosity and refractive index) at various temperatures between 5° and 40°C. Milk's samples were prepared at various percentages of serum (v/v) with 300 [ml] of the control milk which had no serum addition.

Regression linear equations for determining the inverse effect of temperature on the three physical properties are presented. The high values of the regression and determination coefficients presented in this paper, in all cases near to the unity, indicate a very high association between variables.

It was observed that the specific gravity, viscosity and refractive index decrease as the temperature and the added volume of serum increase. The specific gravity values of UHT milk were higher than those ones of raw and pasteurized milk. As the viscosity is a property directly dependent on temperature, it presented lower values at 40 °C than the ones recorded at 15 °C, for the three types of milk. Regarding the refractive index, the reverse tendency was maintained in relation to the added amount of serum and the method used in the samples (clarified and unclarified) influenced the results.

The values of volumetric thermal expansion coefficient showed a decrease for 30% serum addition in raw and pasteurized milk, but for higher percentages this tendency was not maintained and for UHT milk could not even be established.

The Lorentz-Lorenz constant values calculated with refractive index for the sample without clarification, the average for each of the different temperatures, showed a defined periodic decrease that could be associated with the serum content increase. It is well known that this constant value is independent of the temperature but only depends on the composition; therefore this value was considered as an indicator of the presence of serum's milk because the alteration of the composition is reflected in its decrease when added serum increases.

Keywords: adulteration, milk, whey, physical properties, constant Lorenz-Lorentz.

INTRODUCCIÓN

Según Revilla (1985), la leche es una secreción láctea, libre de calostro, obtenida de una o más vacas en buen estado de salud, la cual debe de poseer no menos de 3,25 % de grasa y no menos de 8,25 % de sólidos no grasos. Otra característica de la leche fresca es que debe de estar libre de antibióticos, olores, materias o sabores extraños. Además, debe ser de color blanco opaco, estar libre de enfermedades infectocontagiosas y tener un pH entre 6,4 a 6,7.

Por otra parte, los nutrientes de la leche generalmente se reportan dentro de intervalos, debido a las diferentes razas de mamíferos que la producen y a las diferentes etapas de producción de los mismos. No obstante, también se observa que los componentes de la leche se pueden dividir en tres grandes grupos: agua, sólidos grasos y sólidos no grasos (Escobar, 1980).

La leche, al igual que todos sus derivados, presenta propiedades físicas particulares que son reflejo de su composición y de las interacciones de sus constituyentes. El color y la viscosidad son dos factores que el consumidor inmediatamente puede evaluar y, con base a esto, rechazar o aceptar un producto (Alais, 1971).

Con relación a los componentes, el agua es el compuesto predominante en la leche y en el suero resultante de la fabricación de queso, varias de sus propiedades físicas y térmicas cambian con la temperatura (Alvarado, 1996); en consecuencia en las mezclas de leche con suero también se espera cambios, que deben ser conocidos previa la cuantificación de los niveles de suero añadido a la leche (Faría y Boscán, 1992).

El suero es un producto derivado de la elaboración de queso. Contiene gran cantidad de constituyentes nutricionales como lactosa, albúmina y la mayor parte de los minerales de la leche. Además, presenta características funcionales para ser procesado como alimento para la humanidad. Sin embargo, es muy común que el suero sea utilizado en la alimentación de animales como cerdos o aves, principalmente debido a su alto contenidos de vitamina B2 (Riboflavina) (Judkins, 1984).

En el Gráfico 1 se observa que las proteínas del suero son las solubles en agua y forman cerca del 15 al 20 % de las proteínas lácticas. Por otra parte el suero representa cerca del 82 % del volumen total de leche utilizado en la producción de queso, posee un contenido de proteínas bajo, del 1% (Scott, 1991).

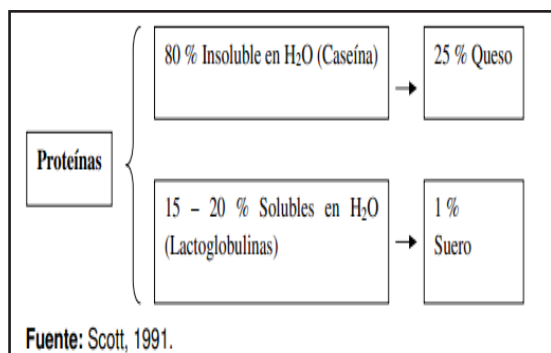


Gráfico 1. Distribución de las proteínas de leche de vaca.

La composición del suero (Tabla 1) varía dependiendo del tipo de queso del cual provenga. Por ejemplo, cuando la cuajada se elabora mediante coagulación enzimática entonces el suero es conocido como suero dulce (pH 6,0 a 6,6), mientras que si la cuajada se obtiene mediante la adición de un ácido entonces el suero es conocido como suero ácido (pH 4,3 a 4,7). El pH del suero altera su composición porcentual de componentes, ya que a pH más ácido menor rendimiento en sólidos del queso Ricotta (Madrid, 1996).

Tecnologías tanto de concentración por membranas como de ultrafiltración, que han sido desarrolladas por la industria láctea, han hecho posible la elaboración de nuevos productos como los concentrados de proteínas de suero que pueden ser utilizados como adulterantes en la leche (Bordin, 2001; Ramadan, 2005).

La leche como producto procesado puede llegar al consumidor en diferentes presentaciones y en cualquiera de ellas puede existir adulteración con diversos propósitos, una es la obtención de mayor rendimiento en el producto final. Por lo anterior, en la actualidad se ha dado atención especial a la detección de lactosueros que se puedan adicionar de forma fraudulenta a la leche fluida (Wolfshoon-Pombo y Moreira-Furtado, 1989. SIAP, 2005).

La incorporación de sólidos procedentes de suero constituye una clara violación a la reglamentación vigente nacional e internacional. Tanto en países de la UE como en América Latina, la adulteración de leche fluida con suero de quesería va en aumento (Urban, 2002).

Debido a los alcances que este tipo de adulteración tiene se han desarrollado varios estudios utilizando algunos métodos que identifican niveles bajos de presencia de suero en diferentes presentaciones de leche. Entre las metodologías empleadas para hacer la determinación de adulteración, la separación de un péptido característico (GMP), es una técnica que ha sido utilizada por Chu y colaboradores (1996), Lieske y Konrad (1996), entre otros investigadores. Alcazar y colaboradores (2000) indicaron mediante este método la detección de niveles hasta del 2,5% de sólidos de suero agregados a leche deshidratada, de igual manera, es importante resaltar que en leches fluidas refrigeradas eventualmente se pueden presentar interferencias lo cual constituye un limitante de esta técnica.

Tabla 1. Composición general del suero lácteo.

Constituyente	Suero	
	Dulce	Ácido
	 %	
Agua	93 - 94	94 - 95
Grasa	0,2 - 0,7	0,04
Proteínas	0,8 - 1,0	0,8 - 1,0
Carbohidratos (lactosa)	4,5 - 5,0	4,5 - 5,0
Cenizas	0,05	0,40
Sólidos totales	5,6 - 6,8	5,7 - 6,4

Fuente: Madrid, 1996.

Asimismo, la presencia de agregados de suero de quesería en leche fluida representa un problema grave, causa pérdidas económicas para los productores y es un engaño para los consumidores al ofrecerles leche adulterada con suero a un precio tal, como si se tratara de un producto que contiene exclusivamente sólidos no grasos provenientes de la leche. Para detectar leche adulterada con suero de quesería se han desarrollado diversos métodos, que se diferencian por la sensibilidad y complejidad del análisis. Muchos de ellos proporcionan solo ligeras indicaciones pero no pruebas definitivas (Olieman, 1983 y Benitez, 2001).

Ramírez Ayala y colaboradores (2009) utilizaron tres métodos analíticos para detectar suero de quesería en leche, establecieron que la cuantificación de la relación proteínas de suero/proteína total obtenida por la cuarta derivada del espectro de absorción fue el indicador más sensible (90% de casos), con relación a la estimación del glicomacropéptido característico del suero mediante electroforesis en gel de poliacrilamida-dodecilsulfato de sodio (70%) o por cromatografía líquida de alta resolución (50%).

Finalmente el trabajo presentado por Chavez y colaboradores (2008) propone un método mucho más sensible que detecta niveles más bajos de suero a relación de otros métodos. El inmuno ensayo Western blot detectó un 0,5% (v/v) de suero líquido en leche en un tiempo de 4,5 horas, tiempo menor al empleado en técnicas como HPLC que es complicada y costosa. Este método de detección de GMP por anticuerpos policlonales demostró ser un método fácil, rápido, más sensible y menos costoso.

Lo anterior indica el gran reto que se presenta para encontrar un método de detección rápido y simple que se pueda llevar a cabo en base a las posibilidades y limitaciones de tiempo que disponen las empresas lácteas en nuestro medio.

Según lo indicado previamente, es innegable que la tarea de establecer la autenticidad o detectar la adulteración de leche con suero es muy compleja, pues intervienen una gran cantidad de factores tales como las diferencias entre razas de ganado, las características geoclimáticas, los diferentes procesos de manufactura empleados, entre otros, haciendo extremadamente difícil elucidar la composición química detallada y única de muchos de éstos productos (Martín del Campo, 2006).

El propósito de este trabajo es buscar índices de control

basados en propiedades físicas, para evaluar el efecto de la adición de suero reconstituido en leche de vaca para el caso de tres presentaciones, leche natural, pasteurizada y esterilizada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

Se utilizó leche fresca recolectada directamente del ordeño en la parroquia Belisario Quevedo (Latacunga). Las muestras de leche pasteurizada y leche UHT se adquirieron en un comercio de la localidad. El suero deshidratado con humedad 5,5 [g/100 g] se adquirió en una distribuidora de aditivos lácteos, el polvo se disolvió en agua hasta obtener una concentración similar al suero de quesería original, hasta 6,8% de sólidos totales.

Metodología

Como control negativo (ausencia de suero de quesería), se utilizaron muestras de leche cruda, pasteurizada y UHT. Como control positivo se preparó por duplicado mezclas de los tres tipos de leche, adicionadas cada una con suero en polvo reconstituido con agua a niveles de 10, 20, 30, 40 y 50 [% v/v].

Para establecer el efecto de la temperatura sobre la gravedad específica, la viscosidad, el índice de refracción y para obtener datos de la constante de Lorentz-Lorenz, las muestras se estabilizaron a 5°, 15°, 25°, 35° y 40°C y todas las determinaciones se realizaron por duplicado y con cinco réplicas.

La determinación de los índices basados en propiedades físicas y del coeficiente volumétrico de expansión térmica, se realizaron con datos obtenidos a 15°C temperatura utilizada en las industrias y 40°C para asegurar el estado líquido de toda la materia grasa, como en la fase anterior se trabajó por duplicado y con un mínimo de cinco réplicas.

Gravedad específica (G).

Se estabilizaron las muestras a las temperaturas indicadas y se procedió a verter cada muestra en una probeta de 250 [ml] inclinada con el fin de evitar la formación de espuma hasta llenar por completo la probeta. Se sumergió suavemente el termolactodensímetro con un ligero movimiento de rotación; se leyó la medida de la gravedad específica cuando el hidrómetro terminó en completo reposo (Norma INEN 11).

Coeficiente volumétrico de expansión térmica (β).

Se procedió a determinar la densidad de cada una de las muestras preparadas con los distintos porcentajes de suero añadido y a dos temperaturas (15° y 40°C) a partir de los valores de gravedad específica medidos con termolactodensímetros, multiplicados por la densidad del agua a la misma temperatura. Se realizó una gráfica (Figura 1) con la escala de temperatura [°C] contra el inverso de la densidad [m³/kg] y a partir de la ecuación lineal obtenida, se aplicó la siguiente ecuación para el cálculo del coeficiente volumétrico de expansión térmica:

$$(1/\rho_T) = (1/\rho_o) + (\beta/\rho_o)T$$

Donde: ρ es la densidad a la temperatura T y β es el coeficiente de expansión térmica.

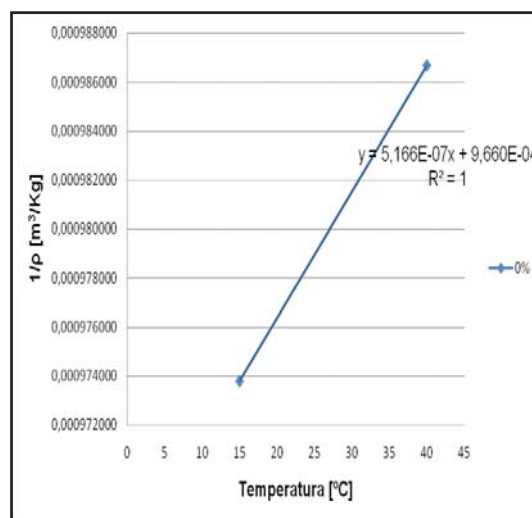


Figura 1: Inverso de la densidad de leche sin adición de suero [m³/kg] como función de la temperatura [°C].

$$(1/\rho_T) = 9,660E-04 + 5,166E-07 (T)$$

$$1/\rho_o = 9,660E-04 \text{ [m³/kg]}$$

$$\rho_o = 1035,20 \text{ [kg/m³]}$$

$$\beta/\rho_o = 5,166E-07 \text{ [m³/kg °C]}$$

$$\beta = 5.3478E-04 = 0,00053 \text{ [°C}^{-1}\text{]}$$

Viscosidad (η).

Se utilizaron viscosímetros de tubo capilar tipo Ostwald, previamente se lavó cuidadosamente el equipo y se secó con aire para obtener las constantes de los viscosímetros con agua destilada y para hacer las determinaciones. Se aplicó la ecuación de Poiseuille, la cual es la base para la operación de los viscosímetros de tubo capilar (Alvarado, 1996).

Índice de refracción (n).

El índice de refracción se midió a través de dos métodos. El primero con muestras sin clarificar, las distintas mezclas se observaron directamente al refractómetro y el segundo método a través de clarificación de cada mezcla, para lo cual se usó una solución de cloruro de calcio al 35%, mezclando 30 ml de leche y 1,5 ml de esta solución; se calentó en baño de agua hirviendo por 5 minutos y se filtró. La determinación del índice de refracción se realizó en un refractómetro tipo Abbe conectado a un baño termostático con recirculación para las mediciones a las distintas temperaturas (Alvarado, 2001).

Refracción específica (R_s).

Uno de los métodos más recomendados para tomar en consideración la densidad de las sustancias es la ecuación de la refracción específica de Lorentz-Lorenz:

$$R_s = [(n^2 - 1)/(n^2 + 2)] (1/\rho)$$

La ecuación supone un nexo entre una cantidad microscópica (la polarizabilidad) y una cantidad macroscópica (el índice de refracción). Fue deducida utilizando electrostática macroscópica en 1880 por H.A. Lorentz e independientemente por el físico danés Ludwing Valentin Lorenz, también en 1880. (Diccionario de Física, 1998).

La observación de que R_s varía regularmente para compuestos homólogos, condujo al concepto de refracción molecular, el cual es la refracción específica multiplicada por el peso molecular (Smith y Cristol, 1972).

Ya que el índice de refracción no tiene dimensiones, la refracción específica tendrá como unidades el recíproco de la densidad [m^3/kg]. Se calcularon los valores de R_s con los valores de índice de refracción medidos en las diferentes muestras, con y sin adición de suero reconstituido, clarificadas y sin clarificar a dos temperaturas (15° y 40°C), en la forma siguiente.

Muestra de leche cruda sin adición de suero, clarificada a 15°C , $n = 1,3453$ y $\rho = 1026,92$ [kg/m^3].

$$R_s = [(n^2 - 1)/(n^2 + 2)] (1/\rho)$$

$$R_s = [(1,3453^2 - 1)/(1,3453^2 + 2)] (1/1026,92)$$

$$R_s = 0,000207 \text{ [m}^3/\text{kg]}$$

Muestra de leche cruda sin adición de suero, clarificada a 40°C , $n = 1,3429$ y $\rho = 1018,53$ [kg/m^3].

$$R_s = [(1,3429^2 - 1)/(1,3429^2 + 2)] (1/1018,53)$$

$$R_s = 0,000207 \text{ [m}^3/\text{kg]}$$

Notar que los valores son iguales a temperaturas distintas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de la temperatura.

En la Tabla 2 se presentan las ecuaciones lineales obtenidas para leche cruda, pasteurizada, esterilizada y con distintos porcentajes de suero reconstituido como función de la temperatura.

Se observa coeficientes de correlación superiores a 0,9 que es un valor significativo y que permite señalar la alta asociación de cada propiedad con la temperatura.

En la leche pasteurizada y UHT se mantiene la alta relación entre cada una de las propiedades con la temperatura.

Los distintos porcentajes de suero añadido también ejercen un efecto en los valores de los puntos de corte en ordenadas de las ecuaciones correspondientes a la gravedad específica y al índice de refracción, los cuales presentan una ligera disminución a medida que se incrementa la cantidad de suero, esto sucede en los tres tipos de leche. En el caso de la viscosidad no se mantiene una disminución progresiva.

Cuando se analiza el efecto de la temperatura sobre la gravedad específica, la viscosidad y el índice de refracción, se confirma la relación inversa, conforme la temperatura se incrementa los valores de las tres propiedades físicas indicadas disminuyen, lo cual ha sido reportado por varios autores (Alvarado, 1996; Harper y Hall, 1976; Walstra y Jenness, 1987).

En todos los casos incluidos en el presente estudio se observa que la temperatura es un factor determinante, todo trabajo que se realice deberá ser a una temperatura definida y específica para obtener valores reproducibles. La segunda alternativa es trabajar con índices que sean independientes de la temperatura para evaluar posibles adulteraciones en leches.

Gravedad específica

En la Figura 2 se observa que conforme se incrementa el porcentaje de suero añadido en los tres tipos de leche, los valores de la gravedad específica disminuyen.

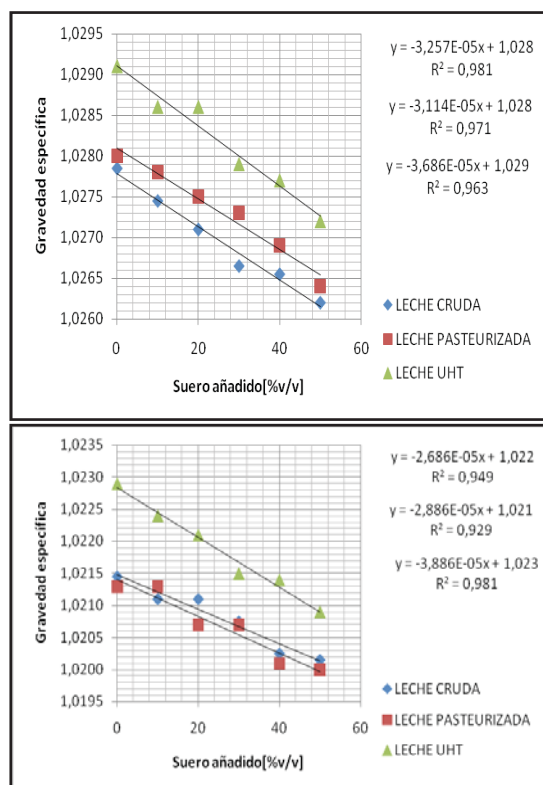


Figura 2. Cambios en la gravedad específica a 15°C (arriba) y 40°C (abajo) por efecto del suero añadido en muestras de leche cruda (promedio de 10 réplicas), pasteurizada (promedio de 5 réplicas) y esterilizada (promedio de 5 réplicas).

Tabla 2. Ecuaciones que relacionan a la temperatura con propiedades físicas (gravedad específica, viscosidad [Pa.s], índice de refracción) medidas en leche cruda, pasteurizada, esterilizada (UHT) y con la adición de suero reconstituido de queso.

PROPIEDAD FÍSICA	SUERO [% v/v]	LECHE CRUDA (5°C - 40°C)	r	LECHE PASTEURIZADA (5°C - 40°C)	r	LECHE ESTERILIZADA (5°C a 40°C)	r
Gravedad específica	0	$G = -2,254E-04(T)+1,031$	0,990	$G = -2,337E-04(T)+1,031$	0,986	$G = -2,166E-04(T)+1,032$	0,988
	10	$G = -2,218E-04(T)+1,030$	0,989	$G = -2,249E-04(T)+1,031$	0,988	$G = -2,082E-04(T)+1,031$	0,981
	20	$G = -2,061E-04(T)+1,030$	0,988	$G = -2,294E-04(T)+1,030$	0,985	$G = -2,111E-04(T)+1,031$	0,980
	30	$G = -2,095E-04(T)+1,030$	0,984	$G = -2,234E-04(T)+1,030$	0,982	$G = -2,157E-04(T)+1,031$	0,982
	40	$G = -2,145E-04(T)+1,030$	0,977	$G = -2,251E-04(T)+1,030$	0,980	$G = -2,157E-04(T)+1,030$	0,985
	50	$G = -2,068E-04(T)+1,029$	0,971	$G = -2,205E-04(T)+1,029$	0,981	$G = -2,091E-04(T)+1,030$	0,979
Viscosidad	0	$\eta = -5,958E-05(T)+3,298E-03$	0,962	$\eta = -6,927E-05(T)+3,654E-03$	0,936	$\eta = -8,309E-05(T)+4,146E-03$	0,944
	10	$\eta = -3,788E-05(T)+2,137E-03$	0,978	$\eta = -4,265E-05(T)+2,500E-03$	0,974	$\eta = -5,083E-05(T)+2,815E-03$	0,976
	20	$\eta = -4,848E-05(T)+2,868E-03$	0,982	$\eta = -4,761E-05(T)+2,837E-03$	0,974	$\eta = -5,519E-05(T)+3,125E-03$	0,981
	30	$\eta = -3,888E-05(T)+2,281E-03$	0,983	$\eta = -4,400E-05(T)+2,673E-03$	0,981	$\eta = -5,304E-05(T)+3,005E-03$	0,985
	40	$\eta = -3,751E-05(T)+2,227E-03$	0,980	$\eta = -3,962E-05(T)+2,483E-03$	0,988	$\eta = -4,886E-05(T)+2,822E-03$	0,983
	50	$\eta = -4,395E-05(T)+2,675E-03$	0,982	$\eta = -3,864E-05(T)+2,409E-03$	0,980	$\eta = -4,478E-05(T)+2,687E-03$	0,995
Índice de refracción Muestras clarificadas	0	$n = -8,172E-05(T)+1,3463$	0,988	$n = -6,039E-05(T)+1,3442$	0,969	$n = -9,805E-05(T)+1,3489$	0,987
	10	$n = -6,162E-05(T)+1,3450$	0,976	$n = -5,763E-05(T)+1,3438$	0,969	$n = -8,376E-05(T)+1,3477$	0,997
	20	$n = -5,490E-05(T)+1,3447$	0,987	$n = -5,173E-05(T)+1,3436$	0,969	$n = -8,976E-05(T)+1,3477$	0,999
	30	$n = -6,578E-05(T)+1,3449$	0,989	$n = -5,710E-05(T)+1,3434$	0,990	$n = -8,102E-05(T)+1,3469$	0,979
	40	$n = -7,046E-05(T)+1,3446$	0,988	$n = -5,498E-05(T)+1,3432$	0,988	$n = -6,959E-05(T)+1,3460$	0,975
	50	$n = -5,721E-05(T)+1,3441$	0,971	$n = -5,351E-05(T)+1,3432$	0,989	$n = -6,485E-05(T)+1,3456$	0,991
Índice de refracción Muestras sin clarificar	0	$n = -5,598E-05(T)+1,3455$	0,944	$n = -7,202E-05(T)+1,3475$	0,990	$n = -5,729E-05(T)+1,3470$	0,959
	10	$n = -6,400E-05(T)+1,3455$	0,997	$n = -5,776E-05(T)+1,3469$	0,998	$n = -6,168E-05(T)+1,3467$	0,994
	20	$n = -5,860E-05(T)+1,3448$	0,986	$n = -6,759E-05(T)+1,3465$	0,984	$n = -6,590E-05(T)+1,3465$	0,971
	30	$n = -6,140E-05(T)+1,3443$	0,985	$n = -6,366E-05(T)+1,3459$	0,965	$n = -6,356E-05(T)+1,3456$	0,986
	40	$n = -5,817E-05(T)+1,3437$	0,979	$n = -8,573E-05(T)+1,3455$	0,996	$n = -6,554E-05(T)+1,3452$	0,952
	50	$n = -6,674E-05(T)+1,3436$	0,990	$n = -8,485E-05(T)+1,3450$	0,996	$n = -8,927E-05(T)+1,3451$	0,998

En leche cruda los valores medidos a 15°C cambian desde 1,0278 hasta 1,0262 y a 40°C cambian desde 1,0215 hasta 1,0202 cuando la adición de suero es 50%. Valores ligeramente superiores se obtuvieron en las muestras de leche pasteurizada, a 15°C, a 40°C los valores son similares a los de leche cruda. Las muestras de leche esterilizada por el método de ultra alta temperatura (UHT) presentaron valores de gravedad específica consistentemente más altos que los medidos en leches cruda y pasteurizada.

La relación inversa entre temperatura y gravedad específica se mantiene, la tendencia lineal parece ser adecuada para describir el efecto de la adición de suero de quesería en leche.

Coeficiente volumétrico de expansión térmica.

Los valores de densidad fueron calculados en base a los datos de gravedad específica medidos con termo lactodensímetros a las condiciones dadas de temperatura, multiplicados por la correspondiente densidad del agua, para cada cantidad de suero añadido. Los valores inversos corresponden a la expansión térmica volumétrica, indica la variación relativa de

la densidad a medida que aumenta la temperatura a presión constante (Pérez Cruz, 2005. Groover, 1997).

Este valor fue determinado para cada una de las muestras de leche en las cuales se obtuvieron valores que disminuían a medida que aumentaba el porcentaje de suero añadido, hasta un máximo de 30% de adición para leche cruda y pasteurizada, en adelante los valores se dispersan. Para leche UHT a ningún porcentaje de adición se puede establecer una secuencia lógica de valores. En la Tabla 3 se presentan los valores calculados a partir de regresiones lineales a distintos porcentajes de adición de suero reconstituido.

La determinación más exacta de la densidad a los mayores porcentajes de adición de suero, es clave para obtener una secuencia lógica de valores que permita utilizar al coeficiente volumétrico de expansión térmica como un indicativo de calidad, para identificar la adulteración de la leche, siempre y cuando se establezca un valor patrón como referencia para cada tipo de leche sin adición de suero, en condiciones que puedan ser reproducibles.

Tabla 3. Valores de coeficiente volumétrico de expansión térmica [$^{\circ}\text{C}^{-1}$] en leche cruda, pasteurizada y esterilizada (UHT) y con la adición de suero reconstituido de queso entre 15° a 40°C .

Suero añadido (% v/v)	TIPO DE LECHE		
	Cruda	Pasteurizada	UHT
	β ($^{\circ}\text{C}^{-1}$)	β ($^{\circ}\text{C}^{-1}$)	β ($^{\circ}\text{C}^{-1}$)
0	5,35E-04	5,47E-04	5,26E-04
10	5,33E-04	5,39E-04	5,27E-04
20	5,19E-04	5,51E-04	5,39E-04
30	5,15E-04	5,43E-04	5,35E-04
40	5,31E-04	5,51E-04	5,31E-04
50	5,21E-04	5,35E-04	5,31E-04

Viscosidad.

En la Figura 3 se observan los cambios de la viscosidad como función del volumen de suero añadido, medida a 15°C y a 40°C .

La tendencia parece ser hacia una disminución mínima de los valores de la viscosidad conforme aumenta la cantidad de suero, sin embargo es irregular. El valor del índice de correlación en los tres tipos de leche y a las dos temperaturas presentadas, 15°C y 40°C , es bajo, lo que indica que prácticamente no existe asociación entre estas dos variables.

Con relación a la concentración de compuestos en leches, hay un incremento en la viscosidad con un incremento en el contenido de sólidos y con una disminución de la temperatura (Harper y Hall, 1976). Ninguna de las dos relaciones es simple, por ello han fracasado todos los intentos de detectar la adulteración de la leche mediante el aguado, a través de las determinaciones de viscosidad. La adición de incluso 5% de lactosa carece prácticamente de efecto, sucede así porque las moléculas relativamente pequeñas apenas afectan a la viscosidad, contrario a lo causado por las macromoléculas (Zela, 2005).

En base a lo indicado, se puede manifestar que la viscosidad no es una propiedad adecuada para detectar la adulteración de leche con suero, pues depende más de la temperatura y no de la concentración. Durante la elaboración del queso y el apareamiento del suero, parece que los componentes se alteran o cambian en su estructura, al reintegrarlos en el sistema leche-suero provocan cambios que explicarían los cambios anómalos de la viscosidad.

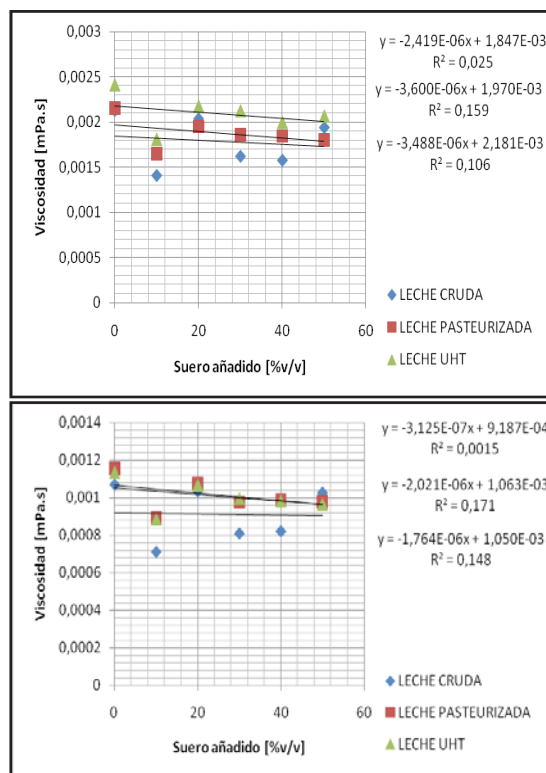


Figura 3. Cambios en la viscosidad por efecto del suero añadido a 15°C (arriba) y 40°C (abajo) en muestras de leche cruda (promedio de 10 réplicas), pasteurizada (promedio de 5 réplicas) y esterilizada (promedio de 5 réplicas).

Índice de refracción.

En la Figura 4 se presentan los datos del índice de refracción (muestras clarificadas y sin clarificar) medidos en las muestras de los tres tipos de leche, con seis niveles de adición de suero desde 0% hasta 50% (v/v) a 15°C y 40°C respectivamente.

El principal problema para utilizar el índice de refracción en la leche es su opacidad natural. Como la absorción de la luz por una muestra de moléculas biológicas y su índice de refracción, están íntimamente relacionados, no es extraño que exista variación de los valores del índice de refracción en los diferentes tipos de leche y productos lácteos. La variación del índice de refracción publicada para leche a 20°C , está entre 1,3440 y 1,3485; plasma 1,34800; suero 1,34240 y grasa 1,46200 (Walstra y Jenness, 1987).

Se define al índice de refracción como el grado de deflexión de un rayo de luz que pasa de un medio transparente a otro, por ello se trabajó tanto con muestras clarificadas y sin clarificar para verificar si existe diferencia en los valores medidos. Los tratamientos térmicos afectan esta propiedad, así para propósito de comparación, a 15°C y en las muestras sin adición de suero y clarificadas, la leche UHT presenta los valores más altos del índice de refracción 1,3474; los valores más bajos corresponden a las muestras de leche pasteurizada 1,3434; valores intermedios se midieron en la leche natural 1,3452; mientras tanto las

mismas muestras a 40°C presentan valores de 1,3448 para leche UHT, para leche cruda 1,3429 y para leche pasteurizada 1,3415.

Se observa además los gráficos lineales del índice de refracción medido en muestras sin clarificar a 15°C y 40°C, los cuales indican la misma relación descrita con las muestras clarificadas, se presentan valores anómalos provocados por la opacidad natural de la leche. En este caso los valores más altos registrados fueron para la leche pasteurizada, lo que difiere de los valores encontrados en muestras clarificadas que presenta a la leche UHT con los valores más altos.

Refracción específica.

Según lo indicado por Smith y Cristol (1972), como otras constantes físicas, el índice de refracción puede usarse en la identificación de compuestos.

Puesto que la velocidad de la luz en la materia depende de la densidad electrónica y la polarizabilidad de los electrones, el cambio del índice de refracción para una determinada sustancia con un cambio en la temperatura o presión está en realidad estrechamente relacionado con el cambio de densidad de la sustancia.

Se destaca una disminución progresiva de los valores de la refracción específica conforme se

incrementa el porcentaje de suero añadido, los valores más altos se registran en leche pasteurizada con un

promedio que oscila de 2,0831E-04 a 2,0705E-04 para la adición de 0% a 50% respectivamente. La leche UHT presenta valores intermedios y la leche cruda los valores más bajos, aunque en cada tipo de leche se mantiene la misma tendencia decreciente.

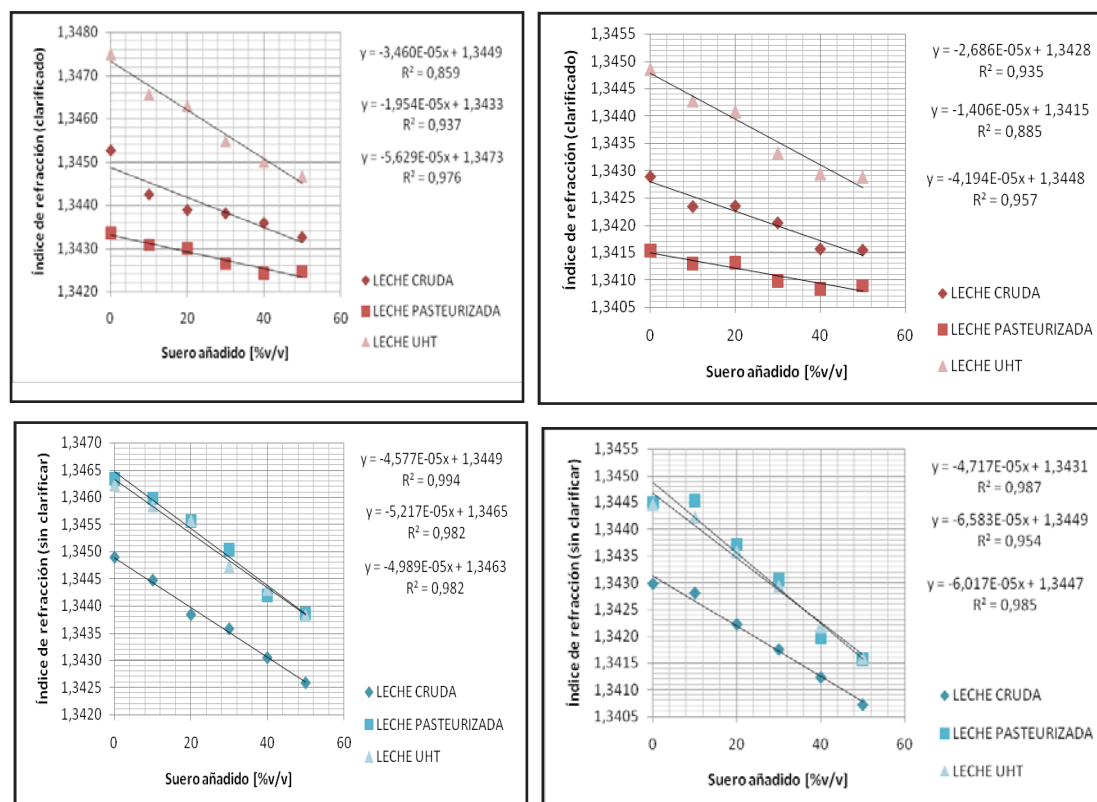
Se conoce que el valor de la constante no depende de la temperatura, depende de la composición, por ello se utilizan los valores promedios de las cinco temperaturas, y se presenta como un indicador de la presencia de suero de queso en la leche, pues la alteración de la composición se ve reflejada con una disminución de los valores conforme aumenta el suero añadido.

En la Figura 5 se observa la relación inversa entre la refracción específica y los distintos porcentajes de suero añadido, la variación es evidente.

Los valores son mayores para leche pasteurizada, intermedios para leche esterilizada y los más bajos para leche cruda, esto puede implicar que el tratamiento térmico influye de algún modo sobre el índice de refracción y por tanto influye directamente en los valores de la constante L-L, que en este caso corresponde a la refracción específica.

La relación lineal inversa que se observa confirma que el índice de refracción o la refracción específica, es un camino idóneo para identificar y cuantificar adulteración de la leche por suero de quesería (Alvarado y Espinel, 2012).

Figura 4. Cambios en el índice de refracción (método clarificado y sin clarificar) por efecto del suero añadido a 15°C (izquierda) y 40°C (derecha) en muestras de leche cruda (promedio de 10 réplicas), pasteurizada (promedio de 5 réplicas) y esterilizada (promedio de 5 réplicas).



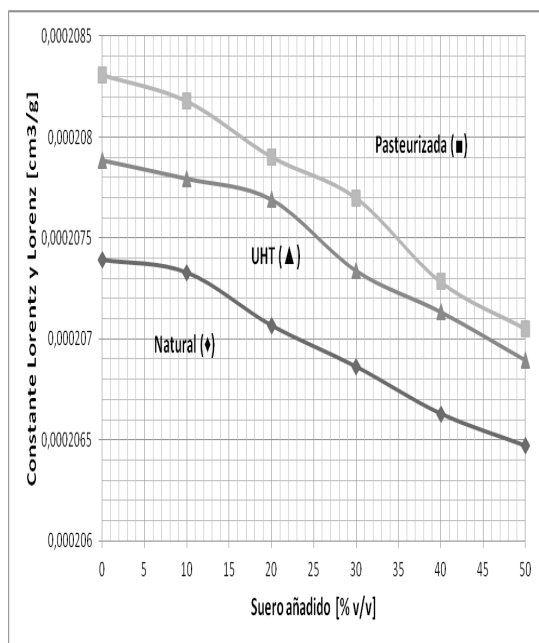


Figura 5. Constante de Lorentz-Lorenz [m^3/kg] como función del suero añadido [%v/v] para leche cruda, pasteurizada y UHT.

CONCLUSIONES

Existe una clara dependencia de la gravedad específica, de la viscosidad y del índice de refracción con la temperatura, la relación puede ser descrita mediante ecuaciones lineales y es inversa, en los tres casos y en los tres tipos de leche. La viscosidad presentó valores inconsistentes, no conviene utilizarla como una propiedad de control para este tipo de adulteración.

La temperatura es un factor determinante sobre las tres propiedades físicas indicadas, todo trabajo que se realice deberá ser a una temperatura definida y especificada para obtener valores comparables.

La adición de suero en tres tipos de leches (cruda, pasteurizada y UHT), provoca cambios en las propiedades físicas de la leche en especial en la gravedad específica y en el índice de refracción.

Los valores de los índices de control en leche natural para la relación [gravedad específica/índice de refracción] de la muestra sin clarificar y clarificada, son prácticamente constantes a diferentes volúmenes de adición de suero y temperaturas.

El cálculo del coeficiente volumétrico de expansión térmica a pesar de leves inconsistencias, se puede tomar en cuenta como un indicativo de calidad para identificar la adulteración de la leche, siempre y cuando se establezca un valor patrón como control para cada tipo de leche sin adición de suero en condiciones que puedan ser reproducibles.

La relación inversa entre la refracción específica o constante L-L y los distintos porcentajes de suero añadido es clara y confirma que el índice de refracción

es el camino más idóneo para identificar y cuantificar adulteración de la leche por suero de quesería en distintos porcentajes.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Técnica de Ambato-Ecuador (UTA), su Centro de Investigación Científica (CENI) y a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos (FCIAL), por el financiamiento y apoyo para la realización de los trabajos mediante el Proyecto interno MLS-CENI.

BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS

- Alais, Ch. 1971. "Ciencia de la Leche". Ed. Continental S.A. Zaragoza-España. pp: 88.
- Alcazar Claudia, Rosas Jorge, Jaramillo Carlos, Peña Silvia. 2000. Detección de glucomacropéptido (GMP) como indicador de adulteración con suero de quesería en leche deshidratada. Veterinaria México; jul-sep 2000. Vol. 31 Issue 3, p217, 6p, 1 chart, 2bw.
- Alvarado, J. de D. y Espinel, E. 2012. Cambios en propiedades físicas de leches por la adición de suero en polvo reconstituido. Memorias IV Congreso Ecuatoriano de Ingeniería de Alimentos y XIII Jornadas de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Riobamba – Ecuador. 10p.
- Alvarado, Juan de Dios y Aguilera, José Miguel. 2001. "Métodos para Medir Propiedades Físicas en Industrias de Alimentos". Zaragoza. España. Editorial Acibia. pp: 3-10.
- Alvarado, Juan de Dios. 1996. "Principios de Ingeniería Aplicados en Alimentos". Radio Comunicaciones, División de Artes Gráficas. Quito, Ecuador. p: 124-127, 183-185.
- Benítez, E.; Ponce, P. y Noa, M. 2001. Detección de suero de quesería en leche en polvo por HPLC de filtración por gel (GFC-HPLC). Rev. Salud Anim. 23:27-31.
- Bordin, G.; Cordeiro, R. De la Calle, B. and Rodríguez, A.R. 2001. Identification and quantification of major bovine milk proteins by liquid chromatography. J. Chromat. 928:63-76.
- Chu, L.; MacLeod, A. and Ozimek L. 1996. Isolation of GMP from sodium caseinate hydrolysate solution by ultrafiltration. Milchwissenschaft. 6:431-435.
- Diccionarios Oxford-Complutense. 1998. "Física". Editorial Complutense.. Oxford University Press.
- Escobar, J. 1980. "Fabricación de Productos Lácteos". Editorial Acibia, Zaragoza – España. pp.343.
- Faría, José y Boscán, Luis. 1992. Detección de adulteración de leche con suero mediante la relación

- proteína serica/caseinato. Revista científica, FCV de Luz. Vol. II, Nº1. Enero-Junio. Venezuela.
- Groover, Mikell. 1997. "Fundamentos de Manufactura Moderna: Materiales, Procesos y Sistemas". Primera edición. Prentice-Hall Hispanoamericana S.A. Impreso en México.
- Harper, W.J. and Hall, C.W. 1976. "Dairy Technology and Engineering". Westport, Connecticut. AVI Pub. Co. Inc. 631p.
- Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN). 2010. Norma INEN 11. Determinación de la densidad relativa. Primera revisión. Quito. Ecuador. 6p.
- Judkins, H. 1984. "La leche: Su Producción y Procesos Industriales". CECSA. México D.F. pp. 495.
- Lieske, B. and Konrad, G. 1996. A new method to estimate casein macropeptide and glycomacropeptide from trichoroacetic acid filtrates. *Milchwissenschaft*. 6:431-435.
- Madrid, A. 1996. "Curso de Industrias Lácteas". Mundi-Prensa Libros S.A. Madrid – España. pp. 604.
- Martin del Campo, Teresa. 2006. "Identificación de Parámetros de Autenticidad en Leche y Productos Lácteos". Tesis Doctoral. Universidad de Guadalajara.
- Olieman, C. Van den Bedem, J.W. 1983. A sensitive HPLC method detecting and estimating rennet whey solids in skim milk powder. *Neth Milk Dairy J.* 37:27-36
- Pérez Cruz, Justo R. (2005). "La Termodinámica de Galileo a Gibbs". Fundación Canaria Orotava de Historia de la Ciencia. España.
- Ramadan, Altra. Vatai, Gyula. Bekassy-Molinar, Erika and Balint Ad Agnes. 2005. Investigation of ultra and nanofiltration for utilization of whey protein and lactose. *J Food Eng.* 67:325-332
- Ramírez Ayala, A.; Vega y León, S. Prado Flores, G. y Gutiérrez Tolentino, R. 2009. Aplicación de tres métodos analíticos para la detección de suero de quesería en leche UHT comercializada en la ciudad de México. *Interciencia. INCI*, 34(6).
- Revilla, A. 1985. Tecnología de la leche; procesamiento manufactura y análisis. San José: Costa Rica: IICA. pp. 75-84.
- Scott, R. 1991. "Fabricación de Queso". Editorial Acribia. Zaragoza – España. pp. 520.
- (SIAP) Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera. 2005. Boletín de leche. México (DF); Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación (SAGARPA). Enero-Junio.
- Smith, L.O. y Cristol Jr. S.J. 1972. "Química Orgánica". Editorial Reverté. San Magín, 26-Barcelona.
- Urban, G.; Perez, N. Perez, J. Fresán, C. González, C. y Vega, S. 2002. Detección de adulteración con suero de quesería en leches fluidas mexicanas mediante electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE). *Rev. Salud Anim.* 24:60-64.
- Walstra, P. y Jenness, R. 1987. "Química y Física Lactológica". Editorial Acribia. Zaragoza, España. P: 405.
- Wolfshoon-Pombo, A.F. and Moreira-Furtado, M.A.M. 1989. Detection of adulteration of pasteurized milk with whey by determination of the casein-bound phosphorus and protein nitrogen content. *Z. Lebensm Unters Frosch.* 188:16-21.
- Zela, Jesús María. 2005. "Aspectos Nutricionales y Tecnológicos de la Leche". Dirección general de promoción agraria. Ministerio de Agricultura. Dirección de crianza. Venezuela.

Biodegradable Films Containing Clove or Citronella Essential Oils against the Mediterranean Fruit Fly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)

Mirari Arancibia^{1,2}, Alejandro Rabossi^{3*}, Pablo Alejandro Bochicchio³, Silvia Moreno³, María Elvira López-Caballero¹, María del Carmen Gómez-Guillén¹, Pilar Montero¹

¹ICTAN-CSIC, Madrid, España, ²UTA, Ambato, Ecuador, ³IIBBA, CONICET- Fundación Instituto Leloir), Argentina.

ABSTRACT

A concentration-response bioassay against the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*, was performed to evaluate the insecticidal activity of biodegradable films containing clove (*Eugenia caryophyllata*, Myrtaceae) or citronella (*Cymbopogon nardus*, Poaceae) oils. We recorded the time of knock down flies after the exposure to soy protein-lignin films incorporated with 3% food grade clove or citronella essential oils, or control films without bioactive. The vapors of clove released from the film containing 3% essential oil were efficient to trigger the tumbling of the flies (40% after 4 h exposition) and after 20 h 90% of the flies died. However, films containing citronella essential oil had poor insecticidal activity. Citronella oil have a much higher insecticidal activity in a pure form, but probably one or both of their main bioactive compounds (citronellal and geraniol) were poorly released from the films. In this work, for the first time, a novel packaging system controlling the release of essential oil of clove with good insecticidal activity against *Ceratitis capitata* was achieved, that can be used to improve quality of fruit and for food products.

KEYWORDS: Biodegradable films; Diptera; *Cymbopogon nardus*; *Eugenia caryophyllata*; Insecticidal activity; Essential oil.

INTRODUCTION

The essential oils (EOs) comprised the steam-distilled fraction of the plant and are responsible for the distinctive smell of plants.¹ The main components of EOs are low-molecular-weight terpenes and phenolics, lipophilic molecules characterized by having a high vapor tension and hence a potential fumigant toxicity.²

In recent years, the use of EOs derived from aromatic plants as low-risk insecticides has increased considerably owing to their popularity with organic growers and environmentally conscious consumers.³ The use of synthetic chemicals to control insects raises several concerns related to environment and human health and alternative natural products that possess good efficacy and are environmentally friendly.⁴ Although from an economical point of view synthetic chemicals are still more frequently used as repellents than essential oils, these natural products extracted from Myrtaceae, Lauraceae, Lamiaceae, and Asteraceae plants have the potential to provide efficient and safer repellents for humans and the environment.⁴

The EO have repellent, insecticidal and growth-reducing effects on a variety of insects and have been used effectively to control pre-harvest and post-harvest phytophagous insects and as insect repellents for biting flies and for home and garden insects.⁵

Clove oil from *Eugenia caryophyllata* Thunb (Myrtaceae) has insecticidal activity against some stored product insects, the American house dust mite, and the European house dust mite.⁶ Park and Shine⁷ reported that the main compounds of clove bud oils eugenol (86.1%) and α -caryophyllene (11.1%) has anti-termite activity mainly attributed to the action of eugenol. Eugenol is a phenolic compound well known for its versatile pharmacological actions, including analgesic, local anesthetic, anti-inflammatory, antimicrobial, antitumor, and hair-growing effects.^{8,9}

Citronella oil, the essential oil from *Cymbopogon* spp (Poaceae), is popular in mosquito-repellent formulations. Candles and incense containing citronella oil are sold as insect repellents in several countries. Despite the popular conception, it has been reported that citronella candles or incense were ineffective for reducing the biting pressure of mosquitoes.¹⁰ The possible reasons could be uncontrolled release of the oil, i.e., either it is released into little amount and become ineffective, or it is released excessive with shorter duration of protection. Therefore, how to control the release of these essential oils is a key area worth investigating.¹¹ In addition, synthetic chemicals used for control of vectors are causing irreversible damage to the ecosystem, as some of them are non-degradable in nature.¹⁰ These problems have highlighted the need for the development of effective alternatives.

* Corresponding Author: Alejandro Rabossi, IIBBA, CONICET- Fundación Instituto Leloir), Argentina.
Phone: 54 11 52387500. Fax: 54 11 52387501. Email: arabossi@leloir.org.ar

Biodegradable films are prepared from edible material that act as a barrier to external elements (factors such as moisture, oils, gases and vapors) and thus protect the product, extend its shelf life and improve its quality.¹² Different food ingredients, derived from meats, cereals, nuts, fruits and vegetables, are being used to produce edible films for strips and pouches. These films act as novel packaging systems and could control the release of active compounds such as antioxidants, flavors and antimicrobial agents in food protection and preservation since they offer several advantages over synthetic materials, such as being biodegradable and environmentally friendly.¹³ Its application as tunnel-film or to cover the fruit in plants is an interesting way to eliminate plastics from the field which led to an increase in environmental wastes and consumes a lot of energy, besides of conferring the function of repellent or insecticide if they contain the suitable active ingredient.¹⁴

Plant EOs may provide potential alternatives to currently used insect control agents because they constitute a rich source of bioactive chemicals and are commonly used as fragrances and flavoring agents for foods and beverages.¹⁵ This paper describes a laboratory study to assess the potential of biodegradable films containing clove or citronella essential oils for use as protection of fruits or cultivars against insect attack. Insecticidal activities of essential oils were assessed using a fumigant bioassay against adults of *Ceratitis capitata*.

MATERIALS AND METHODS

Film preparation. The films were prepared by the casting technique using a two-step process for obtaining a bilayer film. The first layer was prepared as follows: soy protein isolate (SPI) (PRO FAM, ADM, Decatur, IL, USA) was dissolved in distilled water (4g/100mL) at room temperature until complete dissolution, then glycerol was added (1% w/v) and pH was adjusted at 8.0 with 2N NaOH, then formaldehyde (3.3 mmol/100mL) was added and stirred by 10 min and pH adjusted to 10.5 using 2N NaOH. Another solution was prepared dissolving commercial lignin powder (Protobind 1000, Granit R&D SA, Lausanne, Switzerland) in distilled water to a final concentration of 0.6% (w/v) in the film forming solution (FFS). This concentration was selected according to previous experiments¹⁹. The mixture was stirred at 40 °C by 15 min and was alkalinized to pH = ~11.0 to obtain a blend with total solubility. Finally, the two solutions described above were mixed, and 25 mL of the FFS were spread over a plexiglass plate ($\varnothing = 12 \times 12 \text{ cm}^2$) and dried at 45 °C in a forced-air oven (Binder FD 240, Tuttingen, Germany) for 6 h. The second layer follows the same method described above, except that the plasticizer (glycerol) was replaced in one assay by citronella (*Cymbopogon nardus*, Isabrubotanik S.A, Ambato-Ecuador) essential oil and in the other assay with clove (*Eugenia caryophyllata*, Isabrubotanik S.A) essential oil at 1.5 or 3% (w/w) and were homogenized with Ultra-Turrax (T25, IKA Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Germany) by 3 min at 17500 rpm. The essential oils mostly contained 85% eugenol (clove) and 36% citronellal and 21% geraniol (citronella), (data provided by the company).

Thereafter, the lignin solution was added and mixed using magnetic stirring to prevent the bubbles formation. Each FFS containing the essential oils (25 mL) were slowly poured over the first layer and dried at 45 °C in a forced-air oven (Binder FD 240, Tuttingen, Germany) for 6 h. The resulting films were conditioned over a saturated solution of KBr (58% RH) for 5 d.

Insects. Wild-type *Ceratitis capitata* (strain "Mendoza") were reared in pumpkin-based medium¹⁶ and kept in a Conviron chamber (CMP 3244) at 23°C, 50-60% RH, with a photoperiod of 16:8 (Light: Dark). These insects were used to lay eggs representative of the standard laboratory population. For all experiments adult flies less than 2 day old were collected under CO₂ and placed in flasks with free access to sucrose: dry yeast (3:1) and 1% agar as sources of food and water, respectively.

Bioassay. The effect of both EOs and films containing these oils was evaluated using a fumigation bioassay according to Tarelli et al.¹⁷ with modifications.

Clove and citronella solutions (1, 3, and 6%) were prepared in 1% glycerol. The solution was distributed on a glass petri dish of 3.5 or 30 cm² covered with a piece of gauze (2 mm mesh) to avoid fly contact with the solution (Figure 1). The films of approximately 4 and 36 cm² containing 3% clove or citronella (5.2 mg EO/cm²) were suspended from the top of the 1 L flask (18 cm height, 10.5 cm and 7.5 cm diameter at the bottom and top, respectively). To prevent the direct contact of the flies, each film was covered with a piece of gauze to avoid direct contact of the flies (Figure 1).

Groups of 25 virgin flies representing one laboratory population were cooled at 4°C and quickly introduced in the experimental flask. Four replicas per treatment were performed. After a 20 min period of equilibration, the recording time of knock down flies began. Knocked down flies were counted at 30 min, 1, 2, 3, 4 hours. We considered that a fly is knocked down when is lying on the floor of the chamber in a supine position or when is unable to walk (the fly respond to mechanical stimuli).

The insecticidal effect of EOs and films was determined counting the dead flies after 20 hs exposition (none responds to mechanical stimuli).

Data analysis. The data were examined by analysis of variance (ANOVA) using the software Infostat (Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

RESULTS

The insecticidal activity of biodegradable films containing clove or citronella oil was evaluated against *C. capitata* using the experimental chamber described in Figure 1. Initially, the insecticidal activities of clove and citronella essential oils incorporated to soy protein-lignin films were evaluated using 4 or 36 cm² of films by recording the mortality of *C. capitata* adult flies after 20 h of exposition. Table 1 shows that a high mortality was observed using 36 cm² films containing 3% clove EO (90% of the flies dead), while the incorporation of the same concentration of citronella EO presented only a 14% of dead flies ($p < 0.0001$). Negligible percentage mortality of medfly was obtained by controls of 4 and 36 cm² films without EO incorporated.

Figure 2 shows the percentage of cumulative knockdown of flies exposed during 4 h to clove or citronella films (4 and 36 cm²). We recorded the number of flies flipped during the first 4 h of exposition. Figure 2A shows that 3% clove EO knocked down 40% of the flies during the first 4 h of exposition using 36 cm² of the film, while no significant activity was observed using 4 cm² (differences between slopes are significant, $p = 0.001$). On the other hand, Figure 2B shows that the film containing 3% EO citronella did not present noticeable insecticidal effect at both 4 and 36 cm² of the film employed. However, the citronella oil altered the fly behaviour; flies were motionless distributed in different parts of the experimental chamber and cleaned the head and thorax with the anterior legs permanently. Previously, Muryati *et al.*¹⁸, described that citronella showed disturbance effects on fruit fly.

In order to explore the possibility that this EO would be retained in the film, we analyse the effect of citronella and clove EO distributed on a glass petri dish (3.5 cm²) or in paper. Figure 3A shows a 60% of cumulative knockdown flies achieved with 3% EO citronella on paper after 4 h of exposition. The clear insecticidal activity against the fly was registered even at a quarter of concentration of the bioactive that was included in the bioactive film. In addition, over 80% of the flies were knocked down assaying 6% EO of citronella (Figure 3A). The same results were obtained dispensing the citronella oil on the glass petri dishes (data not shown). Therefore, bioactive/s responsible for the fumigant activity present in the citronella oil seems to be hampered to release from the film.

In contrast, Figure 3B shows that 1 to 6% clove oil distributed on paper (3.5 cm²) after 4 h showed a reduced cumulative percentage of knockdown *Ceratitis capitata*. Unexpectedly, only 10% of flies were registered with 6% EO clove. Likewise, 1 to 6% clove oil tested on glass Petri dishes exhibited similar percentages of flies as the obtained using paper. A final experiment was conducted to compare more accurately the insecticidal efficacy of 3% clove oil incorporated in the film (36 cm²) versus that of the oil distributed alone in a similar area. Table 2 showed the mortality of *Ceratitis capitata* flies after 20 h exposition using 3% clove oil distributed over 30 cm² of glass. Results indicate that 3% clove EO alone tested on a petri dish showed noticeable mortality (55.94 %, $p < 0.05$) confirming the insecticidal activity of the clove oil.

Our results indicated that a surface area of 36 cm² of soy protein-lignin films containing 3% clove oil may be useful as insecticide, while 3% citronella showed slighter insecticidal activity.

Table 1. Percentage mortality of *Ceratitis* flies tested with 3% of clove or citronella essential oils incorporated to protein-lignin films. Mortality was registered after 20 h exposition. The assay was repeated four times with 25 adult per assay. No significant effects with 4cm² area ($p = 0.2755$); significant effect with 36cm² ($p < 0.0001$).

Film (cm ²)	N	Treatments (% mortality $\pm$ SD)		
		Without EO	Clove EO	Citronella EO
4	4	5.04 $\pm$ 1.97	8.00 $\pm$ 9.24	13.0 $\pm$ 2.00
36	4	3.50 $\pm$ 2.52	90.00 $\pm$ 4.00	14.0 $\pm$ 6.93

Table 2. Percentage mortality of *Ceratitis* flies tested with 3% of clove essential oil. Mortality was registered after 20 h exposition. The assay was repeated four times with 25 adult per assay. Significant effect with 3.5 cm² area ($p > 0.05$), and 30 cm² ($p < 0.05$).

Glass Petri dish (cm ²)	N	Treatments (% Mortality $\pm$ SD)	
		Without EO	Clove EO
3,5	4	0	2.50 $\pm$ 2.89
30	4	4.02 $\pm$ 2.68	55.94 $\pm$ 17.09

Figure 1. Experimental chambers to evaluate fumigant activity of films with clove or citronella (A), and EO distributed on filter paper or glass (B). EOs on Watman N° 3 paper was place inside a petri dish or on glass petri dish alone. The films and the petri dishes were covered with gauze to avoid direct contact with the flies (A and B). Arrow shows a knock down fly on the floor of the chamber.

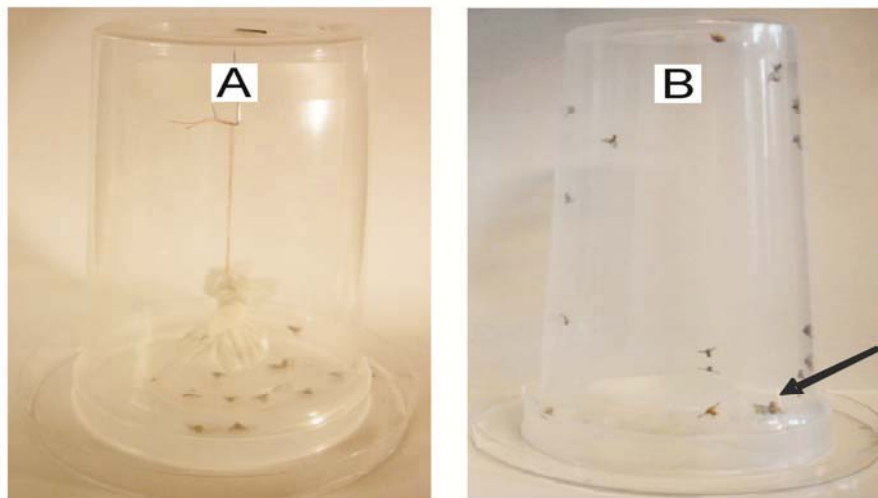
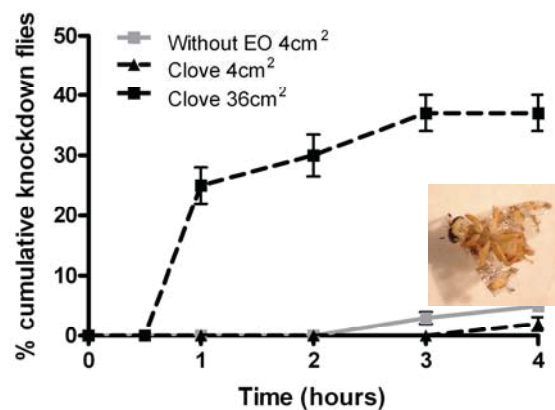


Figure 2. Cumulative percentage of knockdown *Ceratitis capitata* flies exposed or not to EO incorporated to protein-lignin films. (A) 3% clove film and (B) citronella 3% film. Controls without EO of 4 and 36 cm² films causes similar % of knockdown flies. The assay was repeated four times with 25 adult per assay.

A



B

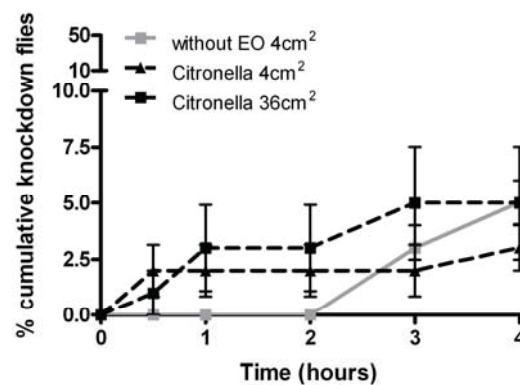
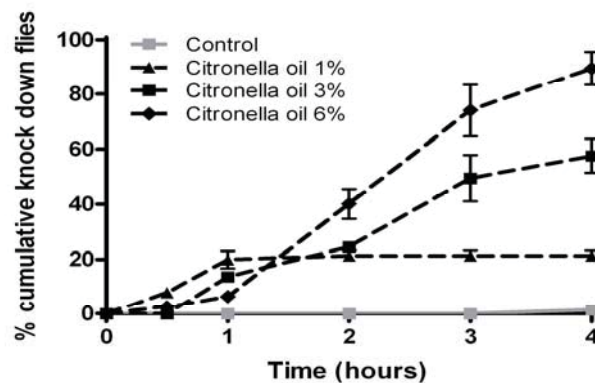
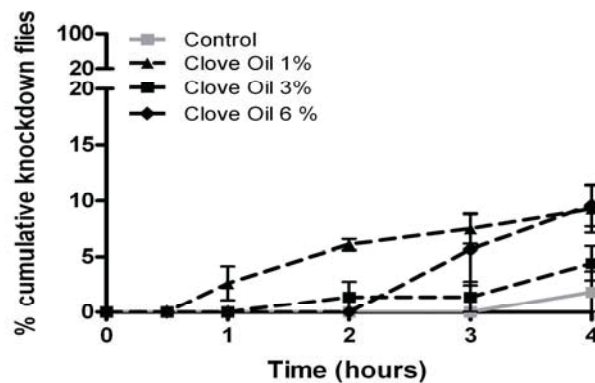


Figure 3. Cumulative percentage of knockdown *Ceratitis capitata* flies exposed to Whatman N° 3 paper impregnated with citronella oil in 1% glycerol (A) or clove oil in 1 % glycerol (B). Controls were paper impregnated with 1% glycerol without EO. The assay was repeated four times with 25 adult per assay.

A



B



DISCUSSION

The results obtained showed for the first time a suitable method for entrapping clove essential oil to develop biodegradable composite films prepared with soy protein and lignin, which give them the insecticidal properties. Bilayer films were prepared with soy protein and lignin in a first layer containing glycerol (1% w/v) and the essential oil (3% w/v) was added in the second layer. These biodegradable films were active against the fruit fly *C. capitata* in the *in vivo* fumigation bioassay.

After incorporation of clove oil into the film the insecticidal activity of the film is clearly detected. Moreover, 36 cm² of soy protein-lignin films containing 3% clove oil showed superior knock down effect and mortality than that of the oil alone (Figure 3B, Table 2). Clove oil used here contains eugenol as the main compound in high concentration (85%). Zhang et al.,⁹ recently mentioned that the application of eugenol is greatly limited mainly because of its unwanted physicochemical properties, such as low solubility, liability to sublimation. So although we cannot rule that it is associated partially with the film; eugenol is in such concentration that still has plenty to act. In addition, it is reasonable to think that the increment in the insecticidal activity of the film containing 3% clove versus that of the oil alone (90% vs. 55%, Table 1 and Table 2, respectively) may be due to a possible change in the physicochemical properties of the clove oil bioactive/bioactives perhaps increasing the rate of evaporation of the clove essential oil via incorporation into the films. In this sense, previously, the antimicrobial activity of the clove essential oil was maintained when it was incorporated in bovine-hide gelatin and chitosan edible films, with no difference between the matrices employed.¹⁹ Nevertheless, some differences were observed with regard to water solubility which could determine the release of bioactive compounds and affect the biological activity of the films, as the gelatin chitosan clove film is less soluble than the gelatin clove film. Therefore, films incorporating clove EO could be advantageous because the oil could then be more efficiently released assuring an extended bioactivity.

A different effect was observed using citronella oil, since a much higher insecticidal activity in a pure form was obtained, but after incorporation into the film it did not present any insecticidal effect. Therefore, citronella oil was well released from the Whatman paper and glass support, but probably one or both of their main bioactive compounds (citronellal and geraniol) were poorly released from the films. It was reported that citronella oil possess a great mosquito-repellent action and a rapid volatility, however the amount of citronella oil permeation was dependent on the type of ointment base used to microencapsulation.²⁰

Currently, the use of synthetic chemicals to control insects raises several concerns related to environment and human health. An alternative is to use natural products that possess good efficacy and are environmentally friendly. Many plant EOs and phytochemicals are known to possess insecticidal or repellent activity. Among those chemicals, EOs from plants belonging to several species has been extensively tested to assess their repellent properties as a valuable natural resource.⁴ These compounds can exert their activities on insects through neurotoxic effects involving several mechanisms, notably through gamma-aminobutyric acid, octopamine synapses, and the inhibition of acetylcholinesterase. With a few exceptions, their mammalian toxicity is low and environmental persistence is short. Registration has been the main bottleneck in putting new products on the market, but more EOs have been approved for use in the United States than elsewhere owing to reduced-risk processes for these materials.³

This paper presents an application of biodegradable films for a novel packaging system controlling the release of active compounds with fumigant activity and insecticide against the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata*. For the practical use of clove oil and their constituents as novel fumigants, further study is necessary on development of formulations to improve the efficacy of biodegradable composite films and to reduce cost.

ACKNOWLEDGMENT

The authors thank Raúl Alzogaray of CIPEIN-CONICET for assistance in data analysis.

Thank for the financial support to SENESCYT Scholarship of the Ecuadorian government of M. Arancibia and CYTED (action 309AC0382) Agrobioenvase.

A.R and S.M. are Career Researchers of the CONICET, Argentina in the IBBA-CONICET. P.A.B. is a graduate student of FCEy N-Buenos Aires University, Argentina.

REFERENCES

- (1) Enan, E., 2001. Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. *Comp. Biochem. Physiol.*, 130: 325-337.
- (2) Adams R. P., 2007. In Identification of essential oils components by gas chromatography 7 mass spectrometry; 4th Ed Allured Publishing, Carol Stream, IL.
- (3) Regnault-Roger C.; Vincent, C.; J. T. Arnason, 2012. Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. *Annu. Rev. Entomol.*, 57: 405-24.
- (4) Nerio L. S.; Olivero-Verbel J.; E. Stashenko, 2010. Repellent activity of essential oils: a review. *Bioresour Tech.*, 101: 372-8.
- (5) Tripathi, A. K.; Prajapati, V.; Verma, N.; Bahl, J. R.; Bansal, R. P.; S. P. S. Khanuja, 2002. Bioactivities of the leaf essential oil of *Curcuma longa* (Var. Ch-66) on three species of the stored product beetles (Coleoptera). *J. Econ. Entomol.*, 95:183-189.
- (6) Kim, E. H.; Kim H. K.; Y. J. Ahn, 2003. Acaricidal activity of clove bud oil compounds against *Dermatophagoides farinae* and *Dermatophagoides pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae). *J. Agric. Food Chem.*, 51: 885-889.
- (7) Park, I. K.; S. C. Shin, 2005. Fumigant Activity of Plant Essential Oils and Components from Garlic (*Allium sativum*) and Clove Bud (*Eugenia caryophyllata*) Oils against the Japanese Termite (*Reticulitermes speratus* Kolbe). *J. Agric. Food Chem.*, 53: 4388-4392.
- (8) Pramod K.; Ansari, S.H.; J. Ali, 2010. Eugenol: a natural compound with versatile pharmacological actions. *Nat. Prod. Comm.*, 5: 1999-2006.
- (9) Zhang, P.; Zhang, E.; Xiao, M.; Chen, C.; W. Xu, 2012. Enhanced chemical and biological activities of a newly biosynthesized eugenol glycoconjugate, eugenol α -D-glucopyranoside. *Appl. Microbiol. Biotech.*, DOI 10.1007/s00253-012-4351-2.
- (10) Fradin M. S.; J. F. Day, 2002. Comparative efficacy of insect repellents against mosquito Bites. *New Engl. J. Med.*, 347: 13-18.

- (11) Hsieh, W. C.; Chang, C. P.; Y. L. Gao, 2006. Controlled release properties of chitosan encapsulated volatile citronella oil microcapsules by thermal treatments. *Colloids Surf. B Biointerfaces*, 53: 209–214.
- (12) Suyatma, N. E.; Tighzert, L.; Copinet, 2005. A. Effects of hydrophilic plasticizers on mechanical, thermal, and surface properties of chitosan films. *J. Agric. Food Chem.*, 3: 3950-3957.
- (13) Tharanathan, R., 2003. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends Food Sci. Tech.*, 14: 71–78.
- (14) Kyrikou I.; D. Briassoulis, 2007. Biodegradation of agricultural plastic films: A critical review. *J. Polymers Environ.*, 15: 125-150.
- (15) Isman, M. B., 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prot.*, 19: 603-608.
- (16) Pujol-Lereis, L. M.; Rabossi, A.; Filiberti, A.; Argaraña, C. E.; L. A. Quesada-Allué, 2006. *D. melanogaster* and *H. irritans* are more sensitive to Phloxine B phototoxicity than *C. capitata*. *Dros. Inf. Serv.*, 89: 82-84.
- (17) Tarelli G.; Zerba, E. N.; R. A. Alzogaray, 2009. Toxicity to vapor exposure and topical application of Essentials oils and monoterpenes on *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *J. Econ Entomol.*, 102: 1383-1388.
- (18) Muryati, Y. A.; Trisyono; Witjaksono; Wahyono, 2012. Effects of citronella grass extract on the oviposition behavior of Carambola fruit fly (*Bractocera carambolae*) in mango. *J. Agric. Biol. Sci.*, 7: 672-679
- (19) Gómez-Estaca, J.; López de Lacey, A.; López-Caballero, M.E.; Gómez-Guillén, M. C.; P. Montero, 2010. Biodegradable gelatin chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. *Food Microbiol.*, 27: 889-896.
- (20) Solomon, B.; Sahle, F. F.; Gebre-Mariam, T.; Asres, K.; R. H. H. Neubert, 2012. Microencapsulation of citronella oil for mosquito-repellent application: Formulation and in vitro permeation studies. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 80: 61–66

Notes

The authors declare no competing financial interest.

Color, Phenolics, and Antioxidant Activity of Blackberry (*Rubus glaucus* Benth.), Blueberry (*Vaccinium floribundum* Kunth.), and Apple Wines from Ecuador

Jacqueline Ortiz, María-Remedios Marín-Arroyo, María-José Noriega-Domínguez, Montserrat Navarro, and Iñigo Arozarena

Abstract: Seventy wines were produced in Ecuador under different processing conditions with local fruits: Andean blackberries (*Rubus glaucus* Benth.) and blueberries (*Vaccinium floribundum* Kunth.) and Golden Reinette apples. Wines were evaluated for antioxidant activity (AA) using the radical scavenging capacity (DPPH) method, total phenolic content (TPC) using the Folin–Ciocalteu method, total monomeric anthocyanins (TMAs) using the pH differential test, and color parameters using VIS-spectrophotometry. For blackberry wines, ellagitannins and anthocyanins were also analyzed using high-performance liquid chromatography with diode-array detection (HPLC–DAD). Apples wines ($n = 40$) had the lowest TPC (608 ± 86 mg/L) and AA (2.1 ± 0.3 mM Trolox). Blueberry wines ($n = 12$) had high TPC (1086 ± 194 mg/L) and moderate AA (5.4 ± 0.8 mM) but very low TMA (8 ± 3 mg/L), with a color evolved toward yellow and blue shades. Blackberry wines ($n = 10$) had the highest TPC (1265 ± 91 mg/L) and AA (12 ± 1 mM). Ellagitannins were the major phenolics (1172 ± 115 mg/L) and correlated well with AA ($r = 0.88$). Within anthocyanins (TMA 73 ± 16 mg/L), cyanidin-3-rutinoside (62%) and cyanidin-3-glucoside (15%) were predominant. Wines obtained by cofermentation of apples and blackberries ($n = 8$) showed intermediate characteristics (TPC 999 ± 83 mg/L, AA 6.2 ± 0.7 mM, TMA 35 ± 22 mg/L) between the blackberry and blueberry wines. The results suggest that the Andean berries, particularly *R. glaucus*, are suitable raw materials to produce wines with an *in vitro* antioxidant capacity that is comparable to red grape wines.

Keywords: anthocyanin, antioxidant activity, fruit, polyphenols, wine

Practical Application: Red wine is known to be a health-promoting product when consumed moderately, due to the presence of antioxidants, mainly phenolic compounds. In Ecuador, the cultivation of grapes for winemaking is not possible. However, in the Sierra region, wines are produced from other fruits such as apples and Andean fruits including Mora de Castilla (blackberry, *Rubus glaucus* Benth.) and Mortiño (blueberry, *Vaccinium floribundum* Kunth.). This study shows how these wines, particularly blackberry wines, are characterized by high polyphenol contents and antioxidant activities as compared to red grape wines. Therefore, winemaking can be a suitable fruit processing alternative in the region.

Introduction

Globally, grape wine is the most-produced fruit-fermented alcoholic beverage, followed by apple cider. However, other fruits are processed through wine-making procedures, particularly red berries, which are rich in anthocyanins and other phenolic-type compounds. From a technological perspective, phenolic compounds are key determinants of the definition and evolution of several wine characteristics, such as color, astringency, and bitterness. Red wine color (WC) depends on the absolute and relative concentrations of anthocyanins in the fruit, the wine production method, and the multiple chemical reactions that occur during

fermentation and aging. These reactions are responsible for the generation of new pigments and the natural evolution of the red WC from red to orange nuances. On the other hand, polyphenols are interesting as health promoting compounds. Most of the previous reports on red berry wines included the evaluation of their *in vitro* antioxidant activity (AA) (Pinghero and Paliyath 2001; Sánchez-Moreno and others 2003; Rupasinghe and Clegg 2007; Yildirim 2006; Jung and others 2009; Johnson and Gonzalez de Mejia 2012; Lim and others 2012; Mudnic and others 2012).

South America has a wide variety of native berries that are rich in antioxidants with high commercialization potential (Schreckinger and others 2010a). In Ecuador, blackberries (*Rubus glaucus* Benth.) are widely cultivated in the Andean regions and consumed fresh or processed into products such as frozen pulp, juice, jam, and wine. Research has only recently addressed the phenolic composition, mainly ellagitannins and anthocyanins, and AA of raw fruit (Mertz and others 2007; Vasco and others 2008, 2009b; Garzón and others 2009) or fruit-derived products, such as wines (Arozarena and others 2012) and isotonic beverages

MS 20121757 Submitted 12/21/2012, Accepted 4/1/2013. Author Ortiz is with Facultad de Ciencia e Ingeniería de Alimentos, Univ. Técnica de Ambato, Avenida Los Chasquis y río Payamino s/n, Ambato, Ecuador. Authors Marín-Arroyo, Noriega-Domínguez, Navarro, and Arozarena are with Dept. Tecnología de Alimentos, Univ. Pública de Navarra, Campus Arrosadía s/n, 31006 Pamplona, Spain. Direct inquiries to author Arozarena (E-mail: inigo.arozarena@unavarra.es).

Table 1—Experimental designs.

Factor Y—yeast strain Y0—LEVAPAN— <i>S. cerevisiae</i> var. <i>cerevisiae</i> Y1—Lalvin ICV OPALE— <i>S. cerevisiae</i> var. <i>cerevisiae</i> Y2—Lalvin EC1118— <i>S. cerevisiae</i> var. <i>oviformis</i> Y3—Lalvin QA 23— <i>S. cerevisiae</i> var. <i>oviformis</i>	Set 1—Apple wines (Ap1)	Description: 16 apple wines were obtained in either presence or absence of fruit solids using 4 different yeast strains, 3 wine dry active yeast strains supplied by Lallemant (Toulouse, France), and 1 bread instantaneous dry active yeast supplied by LEVAPAN (Ecuador). The latter is the cheapest, most readily available and most used commercial yeast in the region. Year of production = 2009 Temperature of fermentation = 24.1 to 26.4 °C
Factor S—Fruit solids in fermentation S0—Without solids S1—With solids Number of trials: 4 × 2 × 2 repetitions = 16 wines		
Factor E—Pectinolytic enzymes E0—No treatment E1—Lallzyme EX: 0.03 g/kg fruit (prior-fermentation) E2—Lallzyme EX: 0.0075 g/L wine (post-fermentation)	Set 2—Apple wines (Ap2)	Description: 12 wines were obtained with a wine yeast strain or with the same bread yeast used in the set 1 and submitted to enzymatic clarification treatments with Lallzyme C-MAX (Lallemant, Toulouse, France) prior or after the fermentation. Treatments were carried out at ambient temperature, as is customary in enological practices, and doses of the enzymes were established according to the supplier's recommendations. Year of production = 2009 Temperature of fermentation = 23.8 to 26.1 °C
Factor Y (yeast strain) Y0—LEVAPAN— <i>S. cerevisiae</i> var. <i>cerevisiae</i> Y1—Lalvin EC1118— <i>S. cerevisiae</i> var. <i>oviformis</i> Number of trials: 3 × 2 × 2 repetitions = 12 wines		
Factor W—proportions of water and fruit in the musts W0—3 L water/kg fruit W1—2 L water/kg fruit W2—1 L water/kg fruit Number of trials: 3 × 4 repetitions = 12 wines	Set 3—Apple wines (Ap3)	Description: 12 wines were obtained from musts prepared by mixing fruit and water in 3 different proportions. Year of production = 2010 Temperature of fermentation = 18.2 to 19.9 °C
Factor E—Pectinolytic enzymes E0—No treatment E1—Lallzyme EX: 0.02 g/kg fruit (prior-fermentation) E2—Lallzyme EX: 0.03 g /kg fruit (prior-fermentation) E3—Lallzyme C-MAX: 0.0013 g/L (post-fermentation) E4—Lallzyme C-MAX: 0.0025 g/L (post-fermentation) Number of trials: 5 × 2 repetitions = 10 wines	Set 4—Blackberry wines (Blk)	Description: 2 doses of 2 commercial pectinases (Lallemant, Toulouse, France) were added at different moments. Lallzyme EX is recommended for the red grape maceration process to increase the amount of juice and color extraction. It was added to the must just before the beginning of the fermentation process. Lallzyme C-MAX that is recommended to clarify must and wines was added once the alcoholic fermentation concluded. As in set 2, treatments were done at ambient temperature. Year of production = 2009 Temperature of fermentation = 23.1 to 26.9 °C
Factor F—Proportions of each fruit in the musts F1—2 parts of apples and 1 part of blackberries F2—1 part of apples and 2 parts of blackberries Number of trials: 2 × 4 repetitions = 8 wines	Set 5—Apple and Blackberry wines (ApBlk)	Description: 8 wines were produced from musts in which 2 different mixtures of apples and blackberries were used. Year of production = 2010 Temperature of fermentation = 17.5 to 19.5 °C
Factor W—Proportions of water and fruit in the musts W0—4 L water/kg fruit W1—3 L water/kg fruit W2—2 L water/kg fruit Number of trials: 3 × 4 repetitions = 12 wines Wines of sets 1 and 2 were obtained from juices prepared with 3 L water per kg of fruit; 2 L in the case of sets 4 and 5 Wines of sets 2, 3, 4, 5, and 6 were fermented in the presence of fruit solids. Wines of sets 3, 4, 5, and 6 were fermented with the same yeast strain (Lalvin QA 23). Wines of sets 1, 3 and 5 were clarified after fermentation with pectinases (Lallzyme C-MAX)	Set 6—Blueberry wines (Blue)	Description: 12 wines were obtained from musts prepared by mixing fruit and water in 3 different proportions. Year of production = 2010 Temperature of fermentation = 14.2 to 18.3 °C

(Estupiñan and others 2011). The Andean blueberry (*Vaccinium floribundum* Kunth.) is a fruit that is found in Ecuador at very high altitudes and almost exclusively in wild form. Commercial use of Andean blueberries is still low. Vasco and others (2009a) characterized the phenolic composition of this berry for the first time and reported that it is primarily characterized by anthocyanins and proanthocyanidins, in a lesser amount (Schreckinger and others 2010b). In Ecuador, different apple varieties are also produced. “Emilia” is the local name of a Golden Reinette variety that has diminished in commercial value over the past decade in comparison to other apple varieties.

The aims of this study were to characterize the total phenolic content (TPC), total anthocyanin content, color, and *in vitro* AA of fruit wines of *R. glaucus*, *V. floribundum* and “Emilia” apples

produced in Ecuador and to compare them with previous findings for grape and fruit wines. For blackberry wines, ellagitannins and individual anthocyanins were also analyzed. In addition, this study evaluated the influence on all of the aforementioned variables of several technological factors including fermentation with several yeast strains, in the presence or absence of fruit solids, with different water-to-fruit ratios, the addition of pectinases, and the cofermentation of blackberries and apples.

Materials and Methods

Chemicals

All chromatographic solvents were HPLC grade. Methanol, acetonitrile, formic acid, hydrochloric acid, gallic acid,

Folin-Ciocalteu reagent, sodium carbonate, and sodium metabisulfite were purchased from Panreac (Castellar del Vallès, Barcelona, Spain). 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox) were obtained from Sigma-Aldrich (Tres Cantos, Madrid, Spain). Cyanidin-3-glucoside ($\geq 96\%$), cyanidin-3-rutinoside ($\geq 96\%$), and ellagic acid ($\geq 90\%$) were from Extrasynthese (Genay, France).

Wines

Seventy fruit wines divided into 6 independent sets were produced in Ecuador. The experimental design and the features of the wine-making procedure for each set of wines are described in Table 1.

The basic raw materials for wine production were fruit, cane sugar, and water. Fifty-eight wines were made at the Technical Univ. of Ambato (Tungurahua Province) with Andean blackberries (*Rubus glaucus* Benth.) and Golden Reinette apples that were purchased at the municipal market of Ambato. Blackberries had a total acidity of 0.75 ± 0.01 g malic acid/100 g and a pH of 3.01 ± 0.01 . Apples had a total acidity of 0.12 ± 0.04 g malic acid/100 g and a pH of 4.17 ± 0.12 . In addition, 12 blueberry wines were produced in Salinas de Guaranda (Bolívar Province) at the facilities of the Cooperative Consortium "Gruppo Salinas" using wild fruits (mortiño or Andean blueberry *Vaccinium floribundum* Kunth.) that were picked in the fields surrounding the village. The total acidity of the blueberries was 0.32 ± 0.04 g malic acid/100 g, and the pH was 3.51 ± 0.09 .

Wines were produced on a small scale in plastic containers of 25 L. The general wine-making procedure was as follows: the fruit was mixed with water in the proportions indicated in Table 1, sulfited (100 mg $K_2S_2O_5/L$), and crushed. The practice of diluting fruit with water is common in the region in order to diminish the viscosity and acidity of the juices, and also due to economic reasons. Immediately after crushing, and only in the S0 trials of set 1, the fruit solids were removed manually through a sieve (850 μm).

All of the musts were enriched up to 21 °Brix to acquire a potential alcohol level of approximately 12% vol. The next step was the inoculation of the yeasts (0.3 g dry yeast/L). The soluble solids

content of each trial was monitored daily during fermentation until it reached a constant level (usually 6 to 7 °Brix).

Subsequently, the solids were removed, and the wines were transferred into a new container and sulfited (75 mg $K_2S_2O_5/L$). The wines were maintained at 18 ± 1 °C for 2 mo. Samples of all of the wines were sent to the Public Univ. of Navarre (Spain) and kept refrigerated (4 °C) and under nitrogen until analyses.

Basic characteristics

Alcoholic degree (% vol.), pH, and total acidity (% malic acid) were measured according to usual methods (Commission Regulation (EEC) No 2676/90).

Turbidity

This analysis was applied to the wines of sets 2 and 4, in which the study of enzymatic treatments with pectinases was included. Turbidity of wines was measured in a HACH 2100N Turbidimeter (Hach Company, Loveland, Colo., U.S.A.) calibrated with formazine standards within the range of 20 to 1000 NTU.

Color measures

All the spectrophotometric measures were made in a double-beam spectrophotometer (Zuzi TU 1901, Spain). In the apple wines, only the absorbance at 420 nm was measured (A_{420} nm). In the red wines, the absorbances at 420, 520, and 620 nm were used to calculate color intensity ($CI = A_{420} + A_{520} + A_{620}$), yellow ($100 \cdot A_{420}/CI$) red ($100 \cdot A_{520}/CI$) and blue ($100 \cdot A_{620}/CI$) components (Glories 1984), and hue (A_{420}/A_{520}) of the wines.

The method of Somers and Evans (1977) was used to obtain wine absorbance at 520 nm or WC, the color due to pigments resistant to SO_2 blanching (CDR_{SO_2}) or residual absorbance of the wine containing 0.3% sodium metabisulfite, the anthocyanin color ($AC = WC - CDR_{SO_2}$) or the color mainly due to monomeric anthocyanins, and chemical age ($CAW = CDR_{SO_2} \cdot 100/WC$).

Antioxidant activity

DPPH assay (Rivero-Pérez and others 2008) was used to evaluate the radical scavenging activity of wines. Sixty microliters of wine (previously diluted 1:20 with methanol) was mixed with

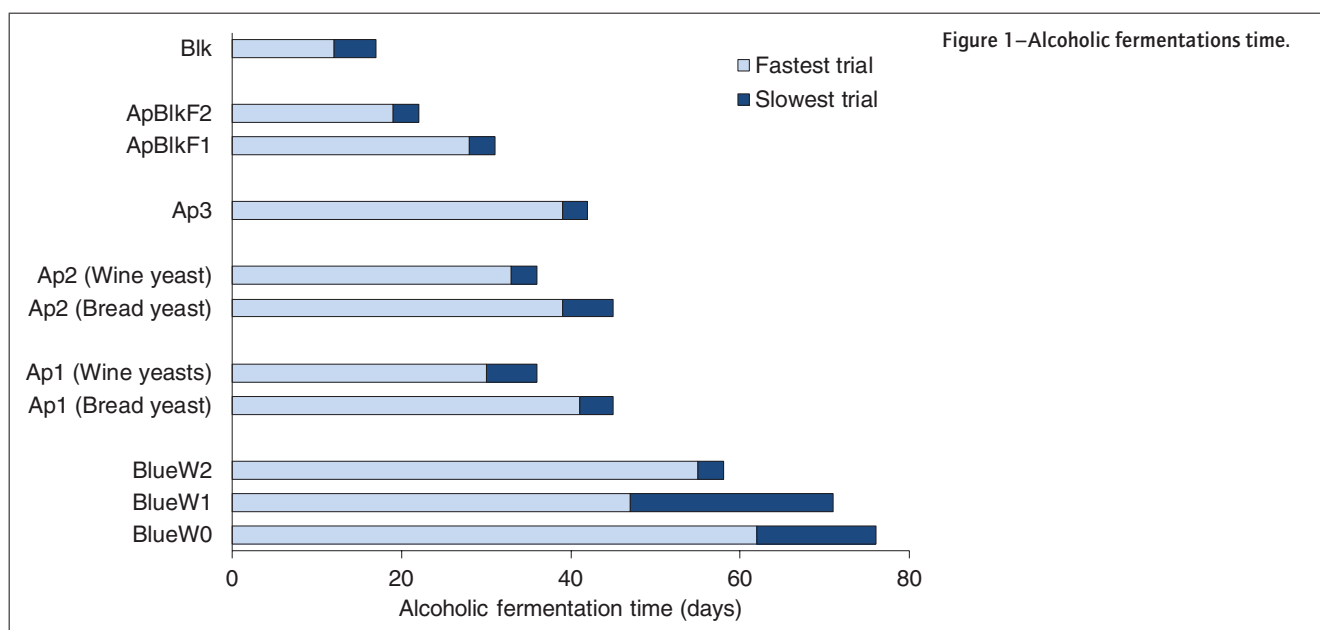


Figure 1—Alcoholic fermentations time.

Table 2—Summary of basic characteristics, color parameters, phenolic composition, and antioxidant activity of wines.

Wines	Blackberry (n = 10)		Apple/Blackberry (n = 8)		Blueberry (n = 12)		Apple (n = 40)	
	Mean ± SD	Min-Max	Mean ± SD	Min-Max	Mean ± SD	Min-Max	Mean ± SD	Min-Max
AD (% vol.)	12.3 ± 0.4	11.9 to 12.8	12.1 ± 0.6	11.6 to 12.9	12.3 ± 0.3	12.0 to 12.9	12.1 ± 0.9	11.2 to 12.9
pH	3.0 ± 0.1	2.9 to 3.1	3.3 ± 0.1	3.1 to 3.5	2.9 ± 0.1	2.8 to 3.0	3.2 ± 0.1	3.1 to 3.4
TA (% malic acid)	0.7 ± 0.1	0.6 to 0.8	0.3 ± 0.5	0.1 to 1.0	0.5 ± 0.1	0.4 to 0.6	0.3 ± 0.1	0.2 to 0.4
TPC (mg GAE/L)	1265 ± 91	1122 to 1400	999 ± 83	862 to 1077	1090 ± 190	854 to 1386	608 ± 86	471 to 801
AA (mM TE)	11.6 ± 0.7	10.6 to 12.5	6.2 ± 0.7	5.2 to 7.2	5.4 ± 0.8	4 to 7	2.1 ± 0.3	1.6 to 2.8
CI	8.3 ± 0.6	6.9 to 9.0	2.9 ± 0.6	2.2 to 3.7	4.5 ± 1.2	2.9 to 6.4	0.21 ± 0.03	0.14 to 0.25
Hue	0.50 ± 0.02	0.46 to 0.55	0.60 ± 0.06	0.53 to 0.67	1.15 ± 0.10	1.00 to 1.32	—	—
Yellow (%)	31 ± 1	30 to 32	35 ± 1	34 to 36	44 ± 2	42 to 48	—	—
Red (%)	63 ± 2	60 to 66	58 ± 4	54 to 63	39 ± 2	36 to 42	—	—
Blue (%)	6 ± 1	4 to 8	6 ± 7	3 to 10	17 ± 1	13 to 18	—	—
WC	5.2 ± 0.5	4.4 to 5.9	1.7 ± 0.5	1.2 to 2.3	1.7 ± 0.4	1.0 to 2.4	—	—
AC	3.5 ± 0.5	2.5 to 4.5	1.2 ± 0.5	0.6 to 1.8	0.9 ± 0.2	0.5 to 1.2	—	—
CDR _{SO2}	1.7 ± 0.3	1 to 2	0.5 ± 0.1	0.3 to 0.7	0.8 ± 0.3	0.5 to 1.3	—	—
CAW (%)	33 ± 7	21 to 43	33 ± 13	18 to 52	48 ± 5	42 to 60	—	—
TMA (mg/L)	73 ± 16	52 to 105	35 ± 22	11 to 63	8 ± 3	5 to 13	—	—
CyGlu (mg/L)	11 ± 4	8 to 18	7 ± 6	1 to 15	—	—	—	—
CyRut (mg/L)	44 ± 15	25 to 69	30 ± 28	3 to 64	—	—	—	—
A _{min} (mg/L)	15 ± 3	9 to 19	14 ± 2	12 to 17	—	—	—	—
Ellagitannins (mg/L)	1172 ± 115	1010–1312	361 ± 144	206 to 538	—	—	—	—

*AD: alcoholic degree, TA: total acidity, TPC: total polyphenol content, AA: antioxidant activity, CI: color intensity, WC: wine color, AC: anthocyanin color, CDR_{SO2}: color of pigments resistant to SO₂ decoloration, CAW: chemical age, TMA: total monomeric anthocyanins, CyGlu: cyanidin-3-glucoside, CyRut: cyanidin-3-rutinoside, A_{min}: sum of minor anthocyanin peaks.

2940 μ L of a 60 μ M DPPH methanolic solution. The difference between the absorbance at 515 nm at time 0 and at 60 min was employed to quantify the AA as millimoles of Trolox equivalents (TEs) per liter (0.1 to 1 mM TE, $R^2 = 0.999$).

Total phenolic content (TPC)

TPC was determined by the Folin–Ciocalteu method (Commission Regulation (EEC) No 2676/90). TPC was expressed as milligrams per liter of gallic acid equivalents (100 to 600 mg GAE/L, $R^2 = 0.999$).

Total monomeric anthocyanins (TMAs)

TMAs were determined by the pH-differential method described by Giusti and Wrolstad (2005). TMAs were expressed as cyanidin-3-glucoside equivalents in milligram per liter.

HPLC-DAD analysis of anthocyanins and ellagitannins

These analyses were applied to the wines elaborated with Andean blackberries (sets 4 and 5). Anthocyanins were separated and quantified with a modified version of the method described by Vasco and others (2009b), while ellagitannins were estimated through their acid hydrolysis and the subsequent analysis by HPLC-DAD of the hydrolytic products, according to the method reported by Vrhovsek and others (2006), with some modifications. All the methods were described in detail in a previous work (Arozarena and others 2012).

Statistical analysis

Means and standard deviation were obtained from at least 3 repetitions. One-way ANOVA and Tukey's Range Test were used to evaluate the differences among wine sets and the effects of technological factors within each set of wines. Pearson's correlation coefficients were used to establish the relationship among AA and the rest of analytical parameters. Principal component and cluster analyses were used to achieve a better description and discrimination of the red fruit wines. All the statistical analyses were made

with the Statgraphics Centurion XVI software (StatPoint Technologies Inc., Warrenton, Va., U.S.A.).

Results and Discussion

Fermentation

First, the sugar attenuation during fermentation and the turbidity of wines will be discussed briefly to clarify subsequent sections. For each trial, fermentation was completed when the soluble solids reached a value below 7 °Brix. As shown in Figure 1, the time of fermentation differed depending on the fruit that was used as the raw material. For the blueberry wines (Blue), fermentation finished 55 to 76 d after yeast inoculation. The extremely slow rate of sugar decrease was most likely caused by the low temperature of juices during fermentation (14 to 18 °C), due to the cold climate of Salinas de Guaranda (3550 m altitude). The other wines were produced in Ambato (2570 m altitude), with temperatures fluctuating between 18 and 24 °C. The time of fermentation of these wines could be considered consistent to the time reported for wines produced from dessert apples (Satora and others 2008) and black raspberries (Lim and others 2012). Blackberry wines (Blk) fermented the fastest (12 to 17 d) and most regularly, while apple wines (Ap) needed 30 to 45 d to finish the process, and wines produced through the cofermentation of apples and blackberries (ApBlk) had an intermediate behavior. Furthermore, within the latter wines, it was observed that the larger the proportion of blackberry in the initial juice, the shorter the fermentation time. As all of the wines were prepared from juices with similar soluble solids levels (21 °Brix), these results suggest that blackberries might provide nutrients other than carbohydrates in a higher concentration than apples. The richness of nutrients in the juices might also be the reason because of, within the Blue wines, those with the lowest water-to-fruit ratio (BlueW2) finished the fermentation first. In contrast, this finding could not be verified for the Ap3 wines. In the Ap1 and Ap2 sets, the fermentations with the bread yeast strain were significantly slower than those developed by the wine yeast strains. Finally, neither the presence/absence of

fruit solids (Ap1) nor the pectinases (Blk, Ap2) affected the course of fermentation.

Turbidity

Approximately 2 mo after the end of fermentation, turbidity was measured in the Blk and Ap2 wines. The use of pectinases is common in cider processing. As expected, the addition of pectinases, either before or after fermentation, significantly reduced ($P < 0.01$) the turbidity of the Ap2 wines from 150–280 to 14–36 NTU. Neither the time at which pectinases were added nor the type of yeast strain affected the final turbidity value. For the Blk wines, no differences were observed among treatments, with low turbidities (15 to 33 NTU) in all of the trials. Therefore, the addition of pectinases in these wines would not be required, since the process occurred naturally in the untreated wines.

Color and phenolics

The characteristics of each type of wines are summarized in Table 2. The TPC of the Ap wines ranged from 471 to 801 mg GAE/L, which is consistent with previous findings in Spanish ciders (Picinelli and others 2009) and apple wines from Turkey (Yildirim 2006; Satora and others 2008). The Blk, ApBlk, and Blue wines had TPC levels (854 to 1400 mg GAE/L) that were similar to those previously reported in wines produced from blackberries (Yildirim 2006; Amidzic-Klaric and others 2011; Johnson

and Gonzalez de Mejia 2012; Mudnic and others 2012), blueberries (Sanchez-Moreno and others 2003; Rupasinghe and Clegg 2007; Su and Chien 2007), and other red berries (Yildirim 2006; Rupasinghe and Clegg 2007; Jung and others 2009; Schmitzer and others 2010; Lim and others 2012).

Blackberry (*R. glaucus*) wines also had the highest monomeric anthocyanin concentration (TMA), which was similar to previous findings in commercial blackberry wines from Croatia (Klaric and others 2011) and Illinois (Johnson and Gonzalez de Mejia 2012). The main anthocyanin compounds in the Blk wines (Figure 2A) were cyanidin-3-rutinoside (62%) and cyanidin-3-glucoside (15%), in agreement with the typical anthocyanin profile of *Rubus glaucus* (Mertz and others 2007; Vasco and others 2009b). In addition, a substantial proportion of other minor pigments (23%) was observed. Among these pigments, several pyroanthocyanins produced during the fermentation and maturation of wines were identified in a previous report (Arozarena and others 2012). TMA in the *V. floribundum* wines was very low in comparison with the levels found in the Blk and ApBlk wines and other blueberry wines (Su and Chien 2007; Johnson and Gonzalez de Mejia 2012). It is well-documented that the free anthocyanin content of any anthocyanin-rich juice declines during fermentation (Rommel and others 1992; Czyzowska and Pogorzelski 2004; Amidzic-Klaric and others 2011; Arozarena and others 2012). Considering the extremely long duration of fermentation in the Blue trials, the

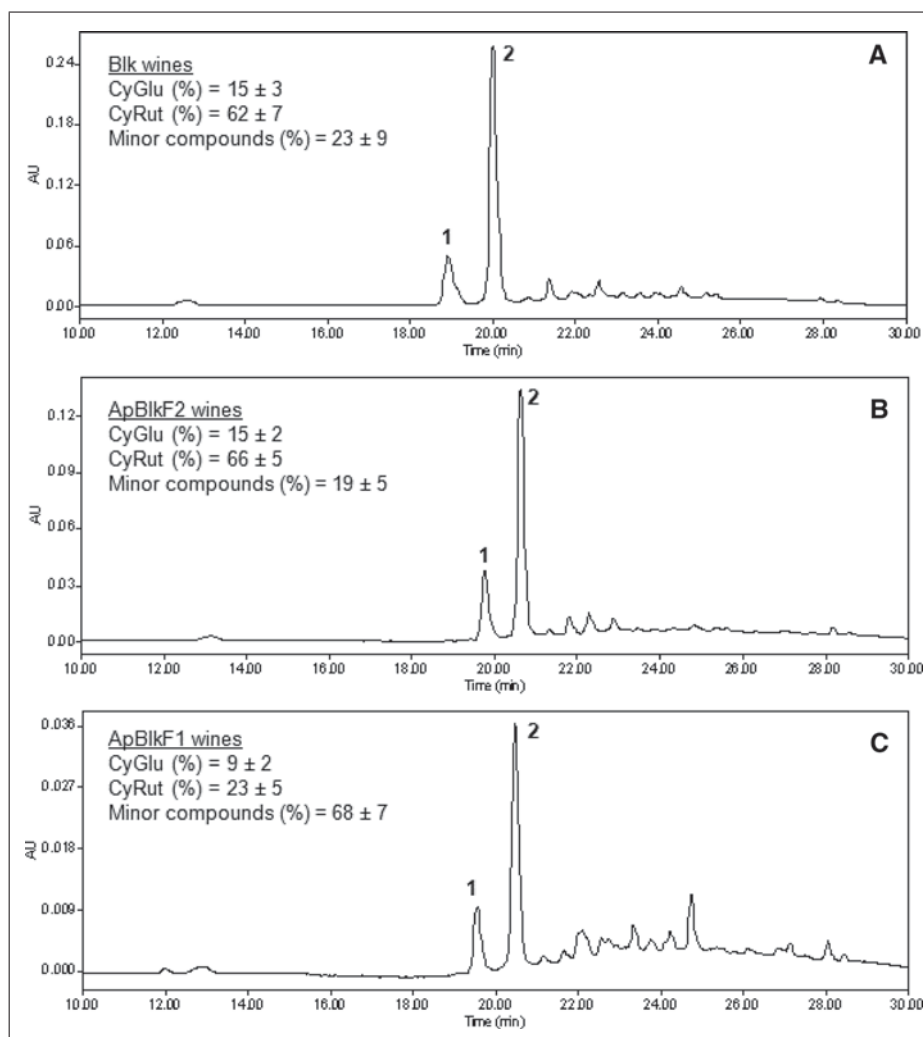


Figure 2—Chromatograms at 520 nm of samples of Blk (A), ApBlkF2 (B), and ApBlkF1 (C) wines (Peak 1: cyanidin 3-glucoside. Peak 2: cyanidin 3-rutinoside).

low TMA levels found in the wines are not surprising. Furthermore, these levels are consistent with the values observed for the color parameters. According to the variables Hue, Yellow, Red, and Blue, the blueberry wines showed a more evolved color than the Blk and ApBlk wines. In addition, the chemical age (CAW) of the Blue wines was high, indicating that almost half (48%) of the wine absorbance at 520 nm was attributable to pigments resistant to the SO₂ blanching that is assumed to be generated from the native free anthocyanins during fermentation and aging.

Antioxidant activity

Higher AAs were shown for red wines; in particular, the AA of the Blk wines was almost twice that of the ApBlk and Blue wines (Table 2). The results agreed with the radical scavenging capacities that were previously detected in Andean blackberry wines (3.8 to 14.2 mM TE, Arozarena and others 2012), in elderberry wines (6.3 to 9.95 mM TE, Schmitzer and others 2010), and in red grape wines (4.7 to 17.4 mM TE, Fernández-Pachón and others 2004), through the DPPH method. Furthermore, the AA of the Ap wines was comparable to that reported by the latter authors in white grape wines (0.3 to 2.68 mM TE).

AA was highly correlated with TPC in the 4 types of wines (Figure 3), as is usually observed in most phenolic-rich products, including fruit wines (Sanchez-Moreno and others 2003; Rupasinghe and Clegg 2007; Satora and others 2008; Amidzic-Klaric and others 2011; Lim and others 2012; Johnson and Gonzalez de Mejia 2012, among others). The AA/TPC ratios for the Blk, ApBlk, Blue, and Ap wines were 9.2 ± 0.2 , 6.2 ± 0.4 , 5.0 ± 0.3 , and 3.5 ± 0.2 mmol TE/g GAE, respectively. On the other hand, values of 4.5 ± 0.6 , 4.9 ± 1.5 , and 3.4 ± 2.3 mmol TE/g GAE were calculated from the data previously reported in wines from elderberries (Schmitzer and others 2010) and red grapes and white grapes (Fernández-Pachón and others 2004), respectively. These data suggest that in relative terms, the Blk wines were the most effective *in vitro* antioxidants among all of the aforementioned wines, which is in agreement with previous findings comparing the superoxide anion scavenging capacity (Pinghero and Paliyath 2001) and the ferric reducing antioxidant power (Mudnic and others 2012) of blackberry and red grape wines. This observation might be attributed to the different nature of the major phenolic compounds in each type of wine. In red grape wines, AAs are particularly associated with flavanols and anthocyanins (Fernández-Pachón and others 2004). Both in elderberry wines

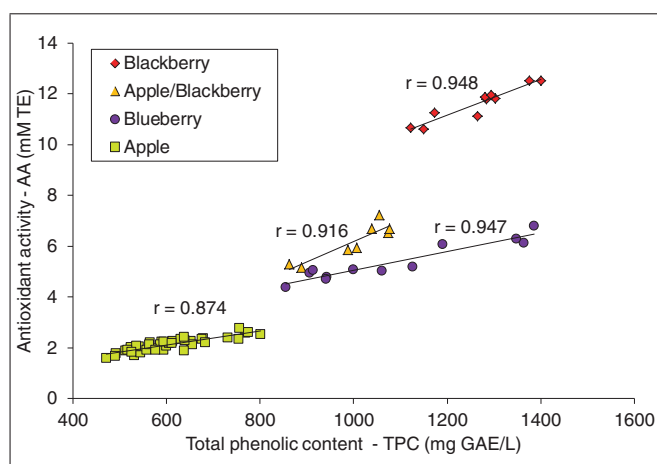


Figure 3—Relationship between the AA and the TPC of wines.

Table 3—Effects of technological factors in apple wines.

Set 1—Ap1 (factor S: fruit solids in fermentation)				
Variables	P-value	Ap1S0	Ap1S1	
TPC (mg GAE/L)	0.0012	574 ± 28a	682 ± 48b	
AA (mM TE)	0.0089	2.1 ± 0.1a	2.3 ± 0.1b	
A420	0.4424	0.21 ± 0.01a	0.21 ± 0.01a	
Set 2—Ap2 (factor E: pectinolytic enzymes)				
Variables	P-value	Ap2E0	Ap2E1	Ap2E2
TPC (mg GAE/L)	0.0716	567 ± 30a	523 ± 31a	509 ± 34a
AA (mM TE)	0.0105	2.1 ± 0.1b	2.0 ± 0.2b	1.7 ± 0.1a
A420	0.0906	0.23 ± 0.01a	0.21 ± 0.02a	0.21 ± 0.01a
Set 3—Ap3 (factor W: proportions of water and fruit)				
Variables	P-value	Ap3W0	Ap3W1	Ap3W2
TPC (mg GAE/L)	0.0001	630 ± 13a	563 ± 56a	772 ± 22b
AA (mM TE)	0.0001	2.3 ± 0.1b	1.9 ± 0.1a	2.6 ± 0.2c
A420	0.0000	0.16 ± 0.01a	0.15 ± 0.01a	0.22 ± 0.01b

*For each set of wines, values within a row followed by different letters are significantly different (Tukey's test, $P < 0.05$). Data for each factor level are represented as the mean ± SD. Identification of factor levels in Table 1. Results regarding the effect of factor Y (yeast strain) for Ap1 and Ap2 wines not included due to the lack of significance.

(Schmitzer and others 2010) and in *V. floribundum* berries (Vasco and others 2009a), anthocyanins are predominant. Schreckinger and others (2010b) showed that the AA of *V. floribundum* was more highly correlated with anthocyanins than with proanthocyanidins. Flavanols and hydroxycinnamic acids are known to be the most abundant phenolic compounds found in apples (Khanizadeh and others 2008), apple wines (Satora and others 2008), and ciders (Rodríguez-Madrera and others 2006; Picinelli and others 2009). In the Blk wines, radical scavenging activity was related to the content of ellagitannins ($r = 0.881$, Figure 3), but no significant correlation with anthocyanins could be verified. Similar findings were previously reported in other *Rubus glaucus* wine samples (Arozarena and others 2012) and in ellagitannin-rich berries such as *Rubus adenotrichus* (Acosta-Montoya and others 2010) and *Rubus idaeus* (Borges and others 2010). In contrast, in the ApBlk wines, AA was correlated with ellagitannins ($r = 0.882$, Figure 3), but also with TMA ($r = 0.853$), cyanidin-3-rutinoside ($r = 0.874$), and cyanidin-3-glucoside ($r = 0.870$). Finally, in the Blue wines, AA was correlated with CDR_{SO₂} ($r = 0.842$), which appears to be consistent with the above observations regarding the low content in TMA and the advanced evolution of the color of these wines.

Influence of technological factors

The significance of the effects of the technological factors on each of the sets of apple wines is summarized in Table 3. The yeast strain factor (Y) was irrelevant in the Ap1 and Ap2 wines. In the Ap2 wines, the reduction of turbidity caused by the pectinases was accompanied by a significant decrease of the AA, and this effect was more important for the postfermentative treatments (18% of reduction) than for the prefermentative treatments (5%). These results are consistent to those reported by Hubert and others (2007), showing that enzymatic depectination followed by sedimentation removed 14% of the flavanols in apple musts. However, other factors had a more profound effect than pectinases on apple wine characteristics. When fruit solids were not removed prior to fermentation, the TPC and AA of the Ap1 wines showed increases of 19% and 12%, respectively. Within Ap3 wines, those obtained from juices with the lowest water-to-fruit ratio (1 L/kg) had 29% higher TPC values and 24% higher AA values than those from musts prepared with 2 and 3 L of water per kg of apple fruit.

Table 4—Effects of technological factors in red wines.

Wines	Set 5—Apple/Blackberry wines (Factor F: proportions of each fruit)			Set 6—Blueberry wines (Factor W: proportions of water and fruit)			
	P-value	ApBlkF1	ApBlkF2	P-value	BlueW0	BlueW1	BlueW2
TPC (mg GAE/L)	0.0150	936 ± 72a	1061 ± 18b	0.0003	934 ± 60a	1001 ± 110a	1322 ± 89b
AA (mM TE)	0.0025	5.6 ± 0.4a	6.8 ± 0.3b	0.0000	4.7 ± 0.3a	5.0 ± 0.1a	6.3 ± 0.3b
CI	0.0009	2.4 ± 0.2a	3.4 ± 0.3b	0.0009	3.3 ± 0.3a	4.2 ± 0.9a	5.8 ± 0.4b
Hue	0.0008	0.65 ± 0.02b	0.56 ± 0.03a	0.1495	1.15 ± 0.14a	1.07 ± 0.03a	1.21 ± 0.07a
Yellow (%)	0.0039	36 ± 1b	34 ± 1a	0.4470	45 ± 2a	44 ± 1a	45 ± 1a
Red (%)	0.0008	55 ± 1a	62 ± 2b	0.0736	39 ± 3a	41 ± 1a	37 ± 1a
Blue (%)	0.0010	9 ± 1b	4 ± 1a	0.0701	16 ± 1a	16 ± 2a	18 ± 1a
WC	0.0001	1.3 ± 0.1a	2.1 ± 0.2b	0.0028	1.3 ± 0.2a	1.7 ± 0.3ab	2.2 ± 0.2b
AC	0.0000	0.7 ± 0.1a	1.6 ± 0.1b	0.0765	0.7 ± 0.1a	0.9 ± 0.2a	1.0 ± 0.2a
CDR _{SO2}	0.1713	0.6 ± 0.1a	0.5 ± 0.1a	0.0002	0.6 ± 0.1a	0.8 ± 0.1a	1.1 ± 0.1b
CAW (%)	0.0017	44 ± 8b	22 ± 4a	0.0961	47 ± 2a	46 ± 4a	53 ± 5a
TMA (mg/L)	0.0001	15 ± 3a	55 ± 9b	0.4119	7 ± 2a	9 ± 2a	8 ± 4a
CyGlu (mg/L)	0.0004	2 ± 1a	12 ± 3b	—	—	—	—
CyRut (mg/L)	0.0001	5 ± 2a	55 ± 10b	—	—	—	—
A _{min} (mg/L)	0.0506	13 ± 2a	15 ± 1a	—	—	—	—
Ellagitannins (mg/L)	0.0001	231 ± 25a	492 ± 51b	—	—	—	—

*For each set of wines, values within a raw followed by different letters are significantly different (Tukey's test, $P < 0.05$). Data for each factor level are represented as the mean ± SD. Identification of factor levels in Table 1. TPC: total polyphenol content, AA: antioxidant activity, CI: color intensity, WC: wine color, AC: anthocyanin color, CDR_{SO2}: color of pigments resistant to SO₂ decoloration, CAW: chemical age, TMA: total monomeric anthocyanins, CyGlu: cyanidin-3-glucoside, CyRut: cyanidin-3-rutinoside, A_{min}: sum of minor anthocyanin peaks. Results regarding the effect of factor E (pectinolytic enzymes) for blackberry wines (set 4) not included due to the lack of significance.

The results for the influence of technological factors on the red fruit wines are shown in Table 4 and Figures 4 and 5. The Blk wines are shown as a homogeneous group of wines characterized by an appreciable richness in polyphenols, a very high AA, and an intense reddish color that is predominantly linked to TMA. The pectinolytic treatments produced neither positive nor negative effects on these characteristics. The method used to prepare the musts might partially explain these findings. In blackberries, anthocyanins are located in the flesh, while ellagitannins are distributed throughout the fruits, with the seeds being the main source (Siriwoharn and Wrolstad 2004; Hager and others 2008). Crushing the raw material in a highly diluted medium (2 parts water to 1 part fruit) caused an intense disruption of the fruit drupelets that would produce a massive extraction of anthocyanins from the fruit flesh so that subsequent addition

of enzymes would not have any additional effect on anthocyanin concentration. Pectinases cannot attack the hard tissues of seeds, and therefore cannot influence the extraction of ellagitannins from them.

In Figure 4, the Blue wines are located on the opposite side of the blackberry wines. These wines were also rich in polyphenols but had a moderate AA and a very low TMA, with a color approaching blue and yellow shades. The BlueW2 wines, with the highest fruit proportion, are clearly separated from the remaining blueberry wines (Table 4 and Figures 4 and 5). The BlueW2 showed 37% and 29% higher values for TPC and AA, respectively, than the BlueW0 and BlueW1 wines. This result was also verified for the variables related to the color concentration: CI (55%), WC (45%), AC (27%), and CDR_{SO2} (65%). In contrast, no differences were observed for TMA and the variables linked to the color shade (Hue, Yellow, Red, or Blue).

Finally, the ApBlk wines are located between the Blue and Blk wines (Figure 4). The ApBlkF2 wines, with some characteristics resembling those of the Blk wines, are separated from the ApBlkF1 wines, which are closer to the Blue wines, particularly to the BlueW0 and BlueW1 trials. As expected, the ApBlkF2 wines were a greater source of antioxidants and colorants than the ApBlkF1 wines. On average, when the blackberry proportion was increased, the changes observed were as follows: 13% TPC, 22% AA, 46% CI, 63% WC, 128% AC, 113% ellagitannins 265% TMA, 580% cyanidin-3-glucoside, and 1085% cyanidin-3-rutinoside (Table 4). This explains why in ApBlk wines both ellagitannins as well as anthocyanins were correlated with AA, as it was mentioned above. On the other hand, the predominance of apples in the ApBlkF1 wines gave them a more evolved color, with less red and more yellow and blue, and a CAW 2 times higher than that of the ApBlkF2 wines. This result was consistent with the finding that in the ApBlkF1, the minor compounds detected using HPLC-DAD represented, on average, 68% of the sum of areas recorded at 520 nm, while in the ApBlkF2 wines, this percentage was only 19%, being the native anthocyanins cyanidin-3-rutinoside (66%) and cyanidin-3-glucoside (15%) predominant (Figures 2B and 2C).

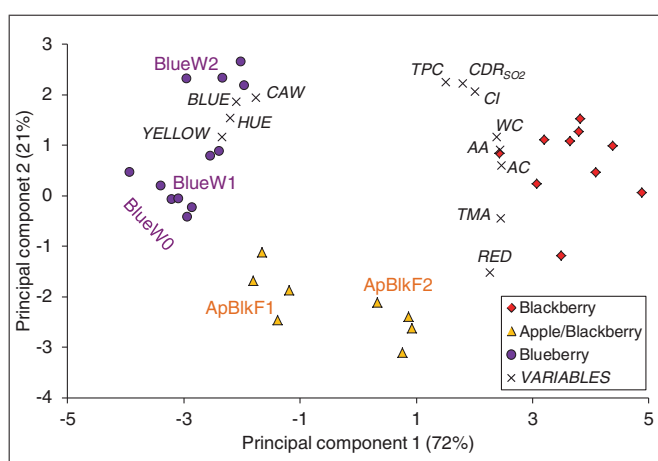


Figure 4—Principal component analysis for the red fruit wines: Biplot of variables and wines.

*AA: antioxidant activity, AC: anthocyanin color, CAW: chemical age, CDR_{SO2}: color of pigments resistant to SO₂ decoloration, CI: color intensity, WC: wine color, TMA: Total monomeric anthocyanins, TPC: total polyphenol content.

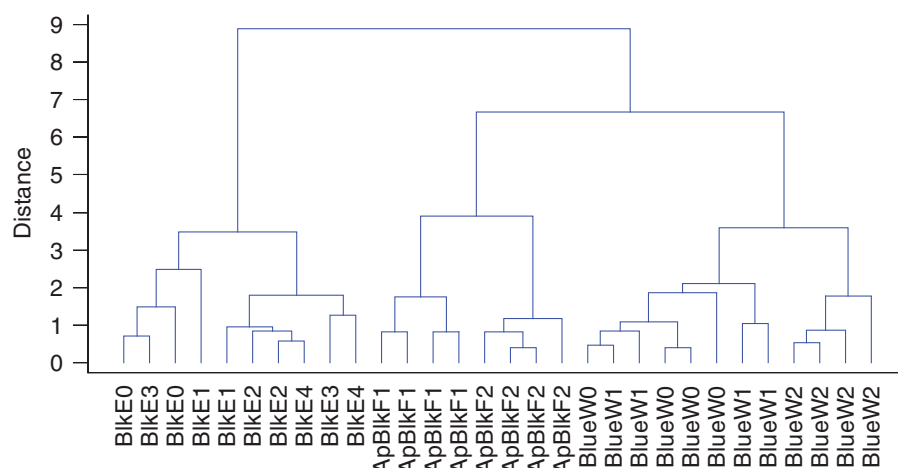


Figure 5—Dendrogram from the complete linkage clustering (euclidean distance) of the red fruit wines.

Conclusions

Wines produced from Andean red berries from Ecuador have high total polyphenol contents that are correlated with their *in vitro* AA, which is comparable with that of red grape wines. *Rubus glaucus* blackberries are highly available in Ecuador and have outstanding levels of anthocyanins and ellagitannins, making these berries particularly interesting as raw materials for winemaking. The combination of Andean blackberries with other less-acidic fruits such as apples may also be a good end-use alternative for both fruits. In contrast, the lack of widespread crops of the *Vaccinium floribundum* blueberry in Ecuador hinders its exploitation. Further research is needed to evaluate the best processing practices for the production of wines or other products derived from these fruits.

Acknowledgments

This work was possible by financial assistance from the AECID (Spanish Agency of International Cooperation for Development): Projects PCI-A/016087/08 and PCI-A/023823/09. The authors thank to M.J. Andrade, I. Córdova, V. Criollo, P. Guano, I. Ocaña, G. Salazar, and K. Tapia, from the Univ. Técnica de Ambato (Ecuador), J. Sánchez from Gruppo Salinas (Salinas de Guaranda, Ecuador); and I. Urretavizcaya, H. Ortega, and S. Salvatierra, from the Univ. Pública de Navarra (Spain), for their collaboration in the projects.

References

- Acosta-Montoya O, Vaillant F, Cozzano S, Mertz C, Pérez AM, Castro M.V. 2010. Phenolic content and antioxidant capacity of highland blackberry (*Rubus adenotrichus* Schltdl.) during three edible maturity stages. *Food Chem* 119:1497–1501.
- Amidzic-Klaric D, Klaric I, Mornar A. 2011. Polyphenol content and antioxidant activity of commercial blackberry wines from Croatia: application of multivariate analysis for geographic origin differentiation. *J Food Nutr Res* 50:199–209.
- Arozarena I, Ortiz J, Hermosín-Gutiérrez I, Urretavizcaya I, Salvatierra S, Córdova I, Marín-Arroyo MR, Noriega MJ, Navarro M. 2012. Color, ellagitannins, anthocyanins and antioxidant activity of Andean blackberry (*Rubus glaucus* Benth.) wines. *J Agric Food Chem* 60:7463–73.
- Borges G, Degeneve A, Mullen W, Crozier A. 2010. Identification of flavonoid and phenolic antioxidants in black currants, blueberries, raspberries, red currants, and cranberries. *J Agric Food Chem* 58:3901–9.
- Commission Regulation (EEC) No 2676/90, determining Community methods for the analysis of wines. *Official Journal L* 272 03/10/1990 P. 0001 – 0192.
- Czyżowska A, Pogorzelski E. 2004. Changes to polyphenols in the process of production of must and wines from blackcurrants and cherries. Part II. Anthocyanins and flavanols. *Eur Food Res Technol* 218:355–9.
- Estupiñán DC, Schwartz SJ, Garzón GA. 2011. Antioxidant activity, total phenolics content anthocyanin and color stability of isotonic model beverages colored with Andes berry (*Rubus glaucus* Benth) anthocyanin powder. *J Food Sci* 76:S26–S34.
- Fernández-Pachón MS, Villaño D, García-Parrilla MC, Troncoso AM. 2004. Antioxidant activity of wines and relation with their polyphenolic composition. *Anal Chim Acta* 513: 113–8.
- Garzón GA, Riedl KM, Schwartz SJ. 2009. Determination of anthocyanins, total phenolic content and antioxidant activity in Andes berry (*Rubus glaucus* Benth). *J Food Sci* 74: 227–32.
- Giusti M, Wrolstad RE. 2005. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. In: Wrolstad RE, editor. *Handbook of food analytical chemistry*. Pigments, colorants, flavors, texture and bioactive food components. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. p 19–31.
- Glories Y. 1984. La couleur des vins rouges. II – mesure origine et interpretation. *Conn Vigne Vin* 18:253–71.
- Hager TJ, Howard LR, Liyanage R, Lay JO, Prior RL. 2008. Ellagitannin composition of blackberry as determined by HPLC-ESI-MS and MALDI-TOF-MS. *J Agric Food Chem* 56:661–9.
- Hubert B, Baron A, Le Quere JM, Renard CMGC. 2007. Influence of prefermentary clarification on the composition of apple musts. *J Agric Food Chem* 55:5118–22.
- Johnson MH, Gonzalez de Mejia E. 2012. Comparison of chemical composition and antioxidant capacity of commercially available blueberry and blackberry wines in Illinois. *J Food Sci* 71:C141–8.
- Jung J, Son MY, Jung S, Nam P, Sung JS, Lee SJ, Lee KG. 2009. Antioxidant properties of Korean black raspberry wines and their apoptotic effects on cancer cells. *J Sci Food Agric* 89:970–7.
- Khanizadeh S, Tsao R, Rekika D, Yang R, Charles MT, Rupasinghe HPV. 2008. Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing. *J Food Compos Anal* 21:396–401.
- Klaric DA, Klaric I, Mornar A. 2011. Polyphenol content and antioxidant activity of commercial blackberry wines from Croatia: application of multivariate analysis for geographic origin differentiation. *J Food Nutr Res* 50:199–209.
- Lim JW, Jeong JT, Shin CS. 2012. Component analysis and sensory evaluation of Korean black raspberry (*Rubus coreanus* Mique) wines. *Intl J Food Sci Technol* 47:918–26.
- Mertz C, Cheynier V, Günata Z, Brat P. 2007. Analysis of phenolic compounds of two blackberry species (*Rubus glaucus* and *Rubus adenotrichus*) by high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ion trap mass spectrometry. *J Agric Food Chem* 55:8616–24.
- Mudnic I, Budimir D, Modun D, Gunjaca G, Generalic I, Skroza D, Katalinic V, Ljubenkovic I, Boban M. 2012. Antioxidant and vasodilatory effects of blackberry and grape wines. *J Med Food* 15(3):315–21.
- Picinielli-Lobo A, Diñeiro-García Y, Mangas-Sánchez J, Rodríguez-Madrera R, Suárez-Valles B. 2009. Phenolic and antioxidant composition of cider. *J Food Comp Anal* 22:644–8.
- Pinghero RG, Paliyath G. 2001. Antioxidant and calmodulin-inhibitory activities of phenolic components in fruit wines and its biotechnological implications. *Food Biotechnol* 15:179–92.
- Rivero-Pérez MD, González-San José ML, Ortega-Heras M, Muñiz P. 2008. Antioxidant potential of single-variety red wines aged in the barrel and in the bottle. *Food Chem* 111:957–64.
- Rommel A, Wrolstad RE, Heatherbell DA. 1992. Blackberry juice and wine: processing and storage effects on anthocyanin pigment composition color and appearance. *J Food Sci* 57:385–91.
- Rodríguez-Madrera R, Picinielli-Lobo A, Suárez-Valles B. 2006. Phenolic profile of Asturian (Spain) natural cider. *J Agric Food Chem* 54:120–4.
- Rupasinghe HPV, Clegg S. 2007. Total antioxidant capacity total phenolic content mineral elements and histamine concentrations in wines of different fruit sources. *J Food Comp Anal* 20:133–7.
- Sanchez-Moreno C, Cao B, Ou B, Prior RL. 2003. Anthocyanin and proanthocyanidin content in selected white and red wines. Oxygen radical absorbance capacity comparisons with non-traditional wines obtained from highbush blueberry. *J Agric Food Chem* 51:4889–96.
- Satora P, Sroka P, Duda-Chodak A, Tarko T, Tuszyński T. 2008. The profile of volatile compounds and polyphenols in wines produced from dessert varieties of apples. *Food Chem* 111:513–9.
- Schmitzer V, Veberic R, Slatnar A, Stampar F. 2010. Elderberry (*Sambucus nigra* L.) wine: a product rich in health promoting compounds. *J Agric Food Chem* 58:10143–6.

- Schreckinger ME, Lotton J, Lila MA, Gonzalez de Mejia E. 2010a. Berries from South America: a comprehensive review on chemistry health potential and commercialization. *J Med Food* 13:233–46.
- Schreckinger ME, Wang J, Yousef G, Lila MA, Gonzalez de Mejia E. 2010b. Antioxidant capacity and in Vitro inhibition of adipogenesis and inflammation by phenolic extracts of *Vaccinium floribundum* and *Aristotelia chilensis*. *J Agric Food Chem* 58:8966–76.
- Siriwoharn T, Wrolstad RE. 2004. Polyphenolic composition of Marion and Evergreen blackberries. *J Food Sci* 69:FCT233–40.
- Somers TC, Evans ME. 1977. Spectral evaluation of young red wines: anthocyanin equilibria total phenolics free and molecular SO₂ “Chemical age”. *J Sci Food Agric* 28:279–87.
- Su M-S, Chien P-J. 2007. Antioxidant activity anthocyanins and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) fluid products as affected by fermentation. *Food Chem* 104:182–7.
- Vasco C, Riihinen K, Ruales J, Kamal-Eldin A. 2009a. Chemical composition and phenolic compound profile of Mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth). *J Agric Food Chem* 57:8274–81.
- Vasco C, Riñen K, Ruales J, Kamal-Eldin A. 2009b. Phenolic compounds in *Rosaceae* fruits from Ecuador. *J Agric Food Chem* 57:1204–12.
- Vasco C, Ruales J, Kamal-Eldin A. 2008. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits of Ecuador. *Food Chem* 111:816–23.
- Vrhovsek U, Palchetti A, Reniero F, Guillou C, Masuero D, Mattivi F. 2006. Concentration and mean degree of polymerization of *Rubus* ellagitannins evaluated by optimized acid methanolysis. *J Agric Food Chem* 54:4469–75.
- Yildirim HK. 2006. Evaluation of colour parameters and antioxidant activities of fruit wines. *Intl J Food Sci Nutr* 57:47–63.

Los trabajos deberán ser inéditos y cumplir con todas las especificaciones de estilo para que sean aceptados.

El artículo deberá ser escrito en el procesador de texto de Microsoft Office para Windows.

Deberá ser escrito en un máximo de diez paginas A4, con los siguientes márgenes: interno 3,5 cm y el resto a 2,5 cm, sin numeración y con tipografía Times New Roman. El título con mayúsculas, negrita, centrado y con tamaño 14, en español e inglés. Los autores nombres y apellidos y el nombre de la institución en que se realizó el trabajo con la dirección completa, centrado con letra tamaño 12.

El texto deberá constar de: Resumen: máximo 300 palabras, en español e inglés. Hasta cinco palabras o frases cortas claves con letra 10 en español e inglés. A continuación: Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión, Conclusiones, Agradecimiento si lo hubiere y Referencias; deberá ser escrito en dos columnas con letra Times New Roman con tamaño 10. Las tablas deberán ser presentadas con su denominación en negritas y en la parte superior. Las figuras con su denominación en la parte inferior. Las referencias deberán seguir el estilo recomendado por las normas internacionales como las del IFT (Ver Journal of Food Science).

El Comité Editorial se reserva el derecho de rechazar todo artículo que no esté conforme a las prescripciones mencionadas. Los artículos estarán sometidos a uno o varios revisores del Comité Editorial o expertos invitados, previa su aceptación.



Av. Los Chasquis y Rio Payamino
Campus Académico Huachi
Teléfono: 2400 987 – 2400 989
Telefax: 593 32 2400 998
Email: fcial@uta.edu.ec
Casilla: 18 01 0334
www.uta.edu.ec
<http://fcial.uta.edu.ec>

