

ALIMENTOS

CIENCIA E INGENIERÍA

Vol. 23 (1) • Junio 2015



Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos
UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos

Av. Los Chasquis y Rio Payamino

Campus Académico Huachi

Teléfono: +593 (03) 2400 987 – 2400 989

Telefax: +593 (03) 2400 998

Email: fcial@uta.edu.ec

www.uta.edu.ec

<http://fcial.uta.edu.ec>



ALIMENTOS

CIENCIA E INGENIERÍA

Revista de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos
UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
Vol. 23 (1) - 2015





EDITORIAL

Estimados lectores,

La Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato, se complace en presentar el volumen 23 (1) de la Revista Alimentos, Ciencia e Ingeniería.

En este número, se presentan comunicaciones, de grupos de investigación de diversas instituciones nacionales e internacionales, enfocadas al desarrollo de alimentos funcionales mediante la utilización de productos nativos como el amaranto y la quinua en la elaboración de productos cárnicos; uso de productos enzimáticos para determinar su efecto en la elaboración de vino de mortiño; nuevas opciones tecnológicas de uso de edulcorantes no calóricos para la optimización del secado osmótico de uvillas y la mejora de la calidad de hortalizas frescas mínimamente procesadas, mediante el empleo de aceites esenciales y tratamientos desinfectantes alternativos al uso de compuestos clorados.

En esta edición, plasmamos los resultados obtenidos en investigaciones realizadas con equipos analíticos como espectroscopia derivada utilizada para determinar amilosa en presencia de amilopectina en almidón de arroz, el uso de técnicas de extracción de polifenoles en plantas aromáticas y medicinales mediante fluidos supercríticos y diversos estudios sobre el empleo de la técnica de microencapsulación, aplicada a los aceites esenciales de calabaza amarga o salvia, a antioxidantes como la manguiferina y diversas sustancias saborizantes, de indudable interés por su enfoque a la mejora de las tecnologías alimentarias.

Finalmente, desde estas líneas deseo agradecer la colaboración del sector empresarial, tanto público como privado, por apoyar esta publicación mediante su aporte económico; considero que esta alianza nos permitirá lograr retos más importantes en el proceso de generación y difusión de conocimiento útil, que a la postre contribuirá a que nuestro país a futuro logre ocupar el espacio que le corresponde en el cada vez más competitivo mundo del que formamos parte.

Hasta el próximo número

Dra. Jacqueline Ortiz Escobar
Decana FCIAL





TABLA DE CONTENIDOS

DESCRIPCIÓN	<i>Pag. 03</i>
AUDIENCIA	<i>Pag. 03</i>
INDEXACIÓN	<i>Pag. 03</i>
DIRECTORIO	<i>Pag. 03</i>
COMITÉ EDITORIAL	<i>Pag. 03</i>
ISSN	<i>Pag. 03</i>
TIRAJE	<i>Pag. 03</i>
CONVOCATORIA PRÓXIMO NÚMERO	<i>Pag. 03</i>
ARTÍCULOS DE INVESTIGACIÓN	<i>Pag. 05</i>
NOTAS DE INVESTIGACIÓN	<i>Pag. 47</i>
GUÍA PARA AUTORES	<i>Pag. 86</i>
<i>Tipos de publicaciones</i>	
<i>Principios generales</i>	
<i>Proceso editorial</i>	
<i>Formato</i>	
<i>Contenido de los artículos de investigación</i>	
<i>Contenido de los trabajos diferentes a los artículos de investigación</i>	



DESCRIPCIÓN

La revista ALIMENTOS CIENCIA E INGENIERÍA (ACI) 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 (FCIAL) de la Universidad Técnica de Ambato (UTA), así como contribuciones de otras Universidades e Instituciones con las cuales la Facultad mantiene convenios de cooperación mediante el intercambio científico y cultural con el propósito de contribuir en la búsqueda de respuestas adecuadas a las necesidades teórico-prácticas en materia de investigación, creación e innovación tecnológica.

AUDIENCIA

La revista ACI cubre una amplia temática enmarcada en los ámbitos de la Ingeniería de Alimentos y la Biotecnología especialmente en su aspecto aplicado, orientándose a una audiencia compuesta por científicos del área de la química, bioquímica, microbiología y tecnología alimentaria, así como relacionados con la nutrición.

INDEXACIÓN

Latindex

DIRECTORIO

Dr. Galo Naranjo, Rector, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)
Dra. Adriana Reinoso, Vicerrectora Académica, Universidad Técnica de Ambato (UTA)
MSc. Jorge León, Vicerrector Administrativo, Universidad Técnica de Ambato (UTA)
Dra. Jacqueline Ortiz, Decana FCIAL, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)
MSc. Lenin Garcés, Subdecano FCIAL, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

COMITÉ EDITORIAL

Editor

Dr. Ignacio Angós, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

Revisores internos

Dr. Milton Ramos, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)
Dr. Carlos Rodríguez, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)
Dra. Mirari Arancibia, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)
Dr. Orestes Darío López, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

Revisores externos

Dra. Pamela Jaramillo, Secretaría Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación (Ecuador)
Dr. Borja Velásquez, Universidad Politécnica de Valencia (España)
Dr. Juan Sebastián Ramírez, Universidad del Valle (Colombia)
Dra. Sandra Horvitz, Secretaría Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación (Ecuador)
Dr. Khalid Ziani, Ministerio de Industrias y Productividad (Ecuador)
Dr. Iñigo Arozarena, Universidad Pública de Navarra (España)
Dr. Gabriel Davidov, University of Massachusetts-Amherst (EE.UU.)
MSc. Ximena Carrión, Universidad Pública de Navarra (España)
Dr. Bruno Iñarra, AZTI-Tecnalia (España)

ISSN (Edición impresa)

1390-2180

TIRAJE

500 ejemplares impresos en papel. Accesible online a través de: http://fcial.uta.edu.ec/index.php?option=com_content&view=article&id=78&Itemid=61

CONVOCATORIA PRÓXIMO NÚMERO

Fecha límite para entrega de manuscritos: 15 septiembre 2015. Publicación: Diciembre 2015

Dirección postal: Secretaría de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato, Av. Los Chasquis y Río Payamino, Ambato (Ecuador).

Dirección electrónica (Editor): revista.fcial@uta.edu.ec

Teléfono: +593 (03) 2400 987 Ext. 103.



INDICE

ARTÍCULOS DE INVESTIGACIÓN

Elaboración de salchicha escaldada con sustitución parcial de harina de trigo por harina de amaranto.

Elaboration of scalded sausage with partial substitution of wheat flour by amaranth flour

N. G. Capúz, A. Pilamala

Determinación de amilosa en presencia de amilopectina en almidón de arroz aplicando la espectroscopía derivada

Determination of amylose in the presence of amilopectin in rice starch applying the derivative spectrometry

A. Carrasqueño-Durán, P. B. Navas

Desarrollo de productos cárnicos funcionales: utilización de harina de quinua

Development of functional meat products: use of quinoa flour

M. A. Peña, B. O. Méndez, M. A. Guerra., S. A. Peña

Uso de ultrasonidos en la extracción de plantas labiadas combinando etanol y CO₂ supercrítico

Ultrasonic-assisted extraction in labiate plants combining ethanol and supercritical CO₂

S. Barrazueta, G. Mendoza, T. Fornari

NOTAS DE INVESTIGACIÓN

Optimización del secado osmótico de uvilla mediante empleo de un edulcorante no calórico

Golden berry osmotic drying optimization by means of a non-caloric sweetener

M. Veloso, L. Garcés, W. Teneda, M. T. Pacheco

Estudio preliminar de microencapsulación de aceite de calabaza amarga

Preliminary study of gac oil microencapsulation

O. D. López, A. Romero, A. Nogueira

Estudio preliminar de obtención de una nanosuspensión de manguiferina

Obtention of a manguiferin nanosuspension. Preliminary study

O. D. López, L. W. Turiño, A. Nogueira

Influencia del proceso de microencapsulación en los ácidos grasos del aceite de Salvia hispanica

Influence of the microencapsulation process in fatty acids of Salvia hispanica oil

O. D. López, R. Vicente., E. A. Rodríguez, V. L. González, A. Nogueira, M. L. González

Microencapsulación de sabores mediante secado por aspersión

Spray drying microencapsulation of flavors

O. D. López, L. W. Turiño., A. Nogueira

Efecto del tratamiento enzimático pectolítico en la obtención de vino de mortiño

Effect of a enzymatic pectolitic treatment in the elaboration of a mortiño fruit wine

J. Jácome, G. Navas

Efecto del lavado con aceite esencial de canela en la calidad de hortalizas troceadas

Effect of cinnamon essential oil washing on the quality of fresh-cut vegetables

A. Jinde, X. Mariño, M. Álvarez, M. Silva

Pag. 05-10

Pag. 11-20

Pag. 21-36

Pag. 37-46

Pag. 47-51

Pag. 52-55

Pag. 56-59

Pag. 60-64

Pag. 65-69

Pag. 70-77

Pag. 78-85

ELABORACIÓN DE SALCHICHA ESCALDADA CON SUSTITUCIÓN PARCIAL DE HARINA DE TRIGO POR HARINA DE AMARANTO

ELABORATION OF SCALDED SAUSAGE WITH PARTIAL SUBSTITUTION OF WHEAT FLOUR BY AMARANTH FLOUR

N. G. Capúz, A. Pilamala¹

Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos,
Universidad Técnica de Ambato (UTA), Ambato, Ecuador

Artículo recibido: 05/01/15

Artículo aceptado: 31/05/15

RESUMEN

La salchicha escaldada es un producto cárnico importante en la alimentación, por su contenido de proteínas y grasa que son fuente importante de energía. La investigación se enfocó en el aprovechamiento de harina de amaranto (*Amaranthus caudatus* L.) variedad INIAP-Alegría, como alternativa al uso de harina de trigo importada, para el enriquecimiento nutritivo en este tipo de embutidos.

En la presente investigación se plantearon tres factores de estudio: harina de amaranto, tipo de carne y porcentaje de proteína de soya y por medio de la evaluación sensorial se determinó que la mejor combinación fue la de harina de amaranto (50 %), harina de trigo (50 %), carne de pollo y proteína de soya (3 %). Debido a sus propiedades funcionales (absorción de agua, formación de gel, emulsificación y contenido de proteínas), la harina de amaranto presentó buena aceptabilidad y la sustitución de la harina de trigo por harina de amaranto no produjo ningún impacto en las características fisicoquímicas y sensoriales de la salchicha escaldada.

En el análisis proximal del mejor tratamiento se obtuvieron los siguientes resultados: cenizas: 3,82 %; proteína: 11,3 %; humedad: 62,3 % y grasa: 9,56 %. Estos valores se encontraron dentro de los rangos establecidos por las normas de calidad ecuatorianas INEN con una vida útil estimada en base a criterios microbiológicos, de aproximadamente 5 días en refrigeración a 4 °C.

Palabras clave: calidad nutricional, análisis sensorial, vida útil, estimación costos.

ABSTRACT

Scalded sausage meat products are important in the human diet, because it contains protein and fat which are basic sources of energy. Research focused on the use of amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) flour INIAP-Alegría, as an alternative nutritional enrichment in this type of sausages aiming to reduce the dependence of imported wheat from international markets.

Study three factors arose: amaranth flour, meat type and percentage of soy protein. The best treatment was composed by amaranth flour (50 %), wheat flour (50 %), chicken meat and soy protein (3 %). It was noteworthy that the percentage of amaranth flour reflected no major importance in terms of physicochemical and sensory characteristics of the scalded sausage. The proximal analysis of the treatment performed better the following results: 3,82 % ash, 11,3 % protein, 62,3 % moisture and 9,56 %, fat the same that are within the ranges established by the Ecuadorian standards INEN, obtaining a high quality-low fat sausage with an estimated shelf life based on microbiological criteria of 5 days at 4 °C.

Keywords: nutritional quality, sensory analysis, shelf life, cost estimation.

¹ Autor de correspondencia: Araceli Pilamala. E-mail: aa.pilamala@uta.edu.ec



1. INTRODUCCIÓN

La salchicha es un elemento importante en la alimentación humana, siendo considerado como parte de la canasta básica del Ecuador (INEC, 2014). Aporta proteínas, que sirven para la formación y mantenimiento de los músculos y una gran cantidad de grasa, que es una importante fuente de energía. Sin embargo, el abuso en el consumo de ésta es una de las causas de la obesidad.

El amaranto (*Amaranthus caudatus* L.) es un alimento con alto valor nutritivo, debido en parte a su contenido proteico (entre 13 % y 16 %) y a que presenta un balance adecuado de aminoácidos esenciales, principalmente lisina, metionina y triptófano; aminoácidos que son deficientes en otros cereales como cuáles? (Contreras et al., 2010). Su proteína es de alto valor biológico, con una eficiencia proteica comparable con la de la caseína. En particular, el aminoácido esencial lisina, que no se encuentra en las proteínas de los cereales, presenta en el amaranto cantidades que duplican las que presentan los granos comunes (Salinas, 2010). En un estudio realizado sobre el comportamiento de la harina de amaranto como ingrediente funcional en formulaciones de productos cárnicos de pasta fina (mortadela y salchicha), se obtuvieron productos con el 100 % de sustitución de harina de trigo sin afectar la calidad sensorial y nutricional (Güemes, 2007).

El empleo de nuevas fuentes de materia prima busca reducir costos de producción cuando el producto utilizado ha sido reconocido por su funcionalidad reduciendo, al mismo tiempo, la dependencia del suministro de materias primas importadas, cuya producción es deficitaria en el Ecuador (ALADI, 2014; INIAP, 2010; Sandoval, 2011; Soliz Valarezo, 1972). Una de las fuentes de proteína en la dieta de los seres humanos está constituida principalmente por cereales o por otras fuentes de origen vegetal. Por tal motivo la incorporación de amaranto en la elaboración del producto es de interés, ya que ha sido identificado como un cereal con gran futuro debido a sus excepcionales aportes de proteína, una recomendable composición de aminoácidos esenciales y, en particular, un alto contenido de lisina (5,1 %) (Castillo, 1999).

El objetivo de esta investigación fue evaluar los efectos de la sustitución parcial de harina de trigo por harina de amaranto variedad INIAP-Alegría sobre las características fisicoquímicas y sensoriales de salchichas escaldadas.

2. MATERIAL MÉTODOS

2.1 Materias primas

Se utilizó harina de amaranto (*Amaranthus caudatus* L.) variedad INIAP-Alegría, harina de trigo (*Triticum aestivum* L.), carne de res, carne de pollo, grasa, hielo, proteína de soya, sales de curado y condimentado y tripas para embutir.

2.2 Diseño experimental

Se planteó un diseño experimental factorial 2^3 , tal como se indica en la Tabla 1.

Tabla 1. Factores y niveles del diseño experimental

Factores	Niveles
a: Harina de amaranto	a ₀ : 50% a ₁ : 75%
b: Tipo de carne	b ₀ : Res b ₁ : Pollo
c: Proteína de soya	c ₀ : 3% c ₁ : 6%

2.3 Elaboración de salchicha escaldada

En la Figura 1 se puede observar el proceso de fabricación de la salchicha escaldada (Salazar, 2014).

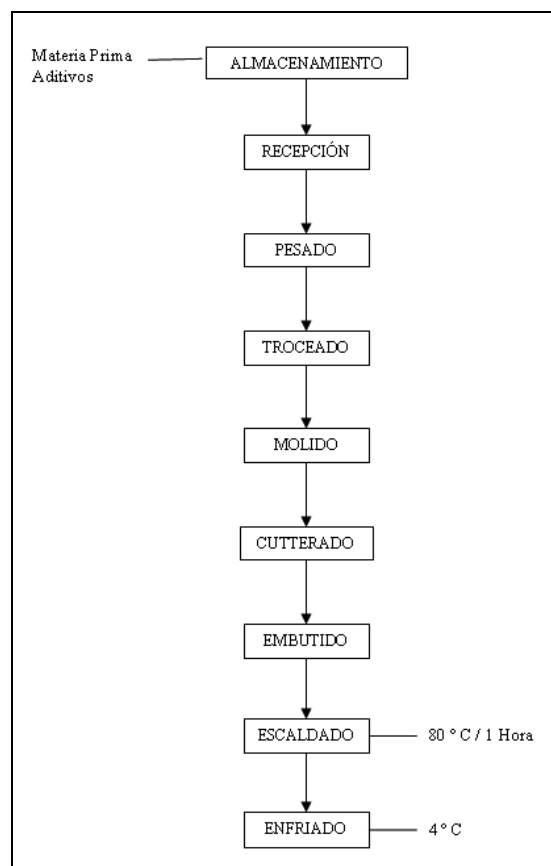


Figura 1. Diagrama de flujo del proceso de elaboración de salchicha escaldada

2.4 Parámetros físico-químicos

El pH se midió de acuerdo al método descrito en la norma NTE INEN 1338 (2012); y la humedad por el método de secado en termobalanza (AOAC, 1943).

2.5 Análisis microbiológicos

Se realizaron recuentos de coliformes totales, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* de acuerdo a la norma NTE INEN 1338 (2012). Los resultados se expresaron en UFC·g⁻¹.

2.6 Evaluación sensorial de la salchicha escaldada

El análisis sensorial de los alimentos es un instrumento efectivo para el control de calidad y aceptabilidad de un alimento. La aceptabilidad se entiende como la valoración que el consumidor realiza atendiendo a su propia escala interna de apreciación y al conjunto de experiencias que haya tenido. La medida de la aceptabilidad de un producto alimenticio tiene como propósito “conocer las reacciones subjetivas de aceptación o rechazo de los consumidores frente a un alimento determinado” (Saltos, 2010).

Los parámetros estudiados fueron color, olor, sabor, textura y aceptabilidad, usando una escala hedónica desde 1 (muy desagradable) hasta 5 (gusta mucho) (Alvarado, 1996; Saltos, 2010). Se utilizó un diseño de bloques incompletos equilibrados con un panel de 14 catadores de ambos sexos, en edades comprendidas entre los 18 y los 65 años, a cada uno de los cuales se les proporcionaron cuatro muestras diferentes de los ocho tratamientos, con el fin de establecer el mejor tratamiento en base a los atributos mencionados. El análisis de los datos se realizó mediante el programa estadístico Statgraphics para llevar a cabo el análisis de varianza y el test de Tukey para realizar la separación de medias con un 5 % de significación.

2.7 Análisis proximal y vida útil del mejor tratamiento.

El análisis proximal se llevó a cabo en el mejor tratamiento basándose la elección en la valoración del contenido de cenizas, proteínas y grasa, determinados según los métodos oficiales de la AOAC (AOAC, 1923, 1996, 2005).

La estimación del tiempo de vida útil de la salchicha escaldada con sustitución parcial de harina de trigo por harina de amaranto se estableció a partir de los conteos microbiológicos obtenidos para coliformes totales (AOAC, 1994), *Salmonella* (AOAC, 2009; INEN, 1996), *Staphylococcus*

aureus (AOAC, 2003, 2004, 2006, 2007) y *E. coli* (AOAC, 1994).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis Físico-químicos

Los valores de pH y humedad de los tratamientos se encontraron dentro de los rangos establecidos por la norma NTE INEN 1338 (2012), tal como se visualiza en la Tabla 2.

Tabla 2. Valores de pH y humedad de las formulaciones de salchichas elaboradas

Tratamientos	pH	Humedad (%)
a ₀ b ₀ c ₀	6,3	60,32
a ₀ b ₁ c ₀	6,5	61,26
a ₀ b ₀ c ₁	6,4	59,24
a ₀ b ₁ c ₁	6,1	58,32
a ₁ b ₀ c ₀	6,5	63,55
a ₁ b ₁ c ₀	6,4	60,84
a ₁ b ₀ c ₁	6,6	61,54
a ₁ b ₁ c ₁	6,4	61,40

a: harina de amaranto (a₀ = 50%; a₁ = 75%); b: tipo de carne (b₀ = Res; b₁ = Pollo); c: proteína de soja (c₀ = 3%; c₁ = 6%).

Según la norma NTE INEN 0783 (1985b), el pH no debe sobrepasar el valor 6,8 para la formación de una pasta homogénea y para evitar una mala emulsión-gel por modificación de las proteínas y no debe estar por debajo del valor 5,0 para evitar emulsiones de menor calidad y rendimiento.

Por tanto, el valor de pH de los ocho tratamientos se encontró dentro del rango permitido por la norma NTE INEN 1338 (2012). Cabe mencionar que el pH del mejor tratamiento (elaborado con harina de amaranto al 50 %, harina de trigo al 3 %, carne de pollo y proteína de soja al 3%, presentó un valor de 6,5 siendo aceptable de acuerdo a la norma NTE INEN 0783.

En cuanto al valor promedio de humedad de la formulación óptima, fue de 61,26 % el cual se encontró dentro del rango establecido en la norma NTE INEN 777 (1985a) que establece como valor máximo permitido un 65 % de humedad para salchicha escaldada. Simultáneamente, el mejor tratamiento mostró un valor de 61,26% el cual se encontró dentro del rango establecido, siendo esta determinación muy importante para una buena conservación del producto.

3.2 Evaluación Sensorial

De acuerdo a los datos de la evaluación sensorial, la muestra de mayor aceptabilidad fue el tratamiento a₀b₁c₀, correspondiente a la formulación de harina de amaranto (50 %), carne de pollo y proteína de soja (3 %). La Figura n° 2 representa la calificación



promedio más alta con respecto a los otros tratamientos de salchicha escaldada.

3.3 Análisis fisicoquímicos y microbiológicos del mejor tratamiento

Los resultados del análisis proximal aplicado al mejor tratamiento, correspondiente a la formulación de harina de amaranto (50 %), harina de trigo (50 %) carne de pollo y proteína de soya (3 %) se presentan en la Tabla 3.

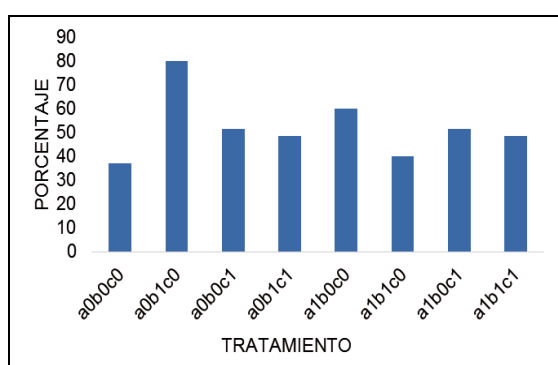


Figura 2 Valoración de la aceptabilidad de las diferentes formulaciones de las salchichas escaldadas. a: harina de amaranto ($a_0 = 50\%$; $a_1 = 75\%$); b: tipo de carne ($b_0 = \text{res}$; $b_1 = \text{pollo}$); c: proteína de soya ($c_0 = 3\%$; $c_1 = 6\%$)

Tabla 3. Análisis proximal del mejor tratamiento (harina de amaranto al 50 %, harina de trigo al 50 %, carne de pollo y proteína de soya al 3 %)

Parámetro	Resultados
Cenizas (%)	3,82
Proteína (%) ¹	11,3
Humedad (%)	62,3
Grasa (%)	9,56
Carbohidratos totales (%) ²	13,0

¹ % Proteína= % N x 6,25. ² Obtenido por cálculo

El control de los parámetros bromatológicos es importante para el entendimiento de los factores que determinan la composición y las propiedades de los alimentos así como, la habilidad para producir alimentos que sean seguros, nutritivos y deseables para el consumidor. En este sentido, el valor de cenizas para el producto obtenido a partir de salchicha fue de 3,82%, encontrándose dentro del rango establecido en la norma NTE INEN 1338 (2012), que permite como valor máximo un 5 % en salchicha escaldada.

Debido a la incorporación de proteína de soya y al tenor proteico de la harina de amaranto, el contenido de proteína presentó un valor de 11,3 %, que fue superior a los valores de proteína de salchichas de otras marcas comerciales en las que dicho contenido se encuentra en un 8 %.

En cuanto al contenido de humedad, éste fue de 62,26 % manteniéndose dentro del rango permitido

por la norma NTE INEN 1338 (2012) que permite como valor máximo un 65 % de humedad.

El contenido de grasa resultante fue de 9,56 %, encontrándose dentro del rango permitido por la norma NTE INEN 1338 (2012) la cual permite un valor máximo del 25 %. En este caso, el valor obtenido fue muy bajo, atendiendo a los valores encontrados en diversas marcas comerciales, las cuales presentaron valores en torno al 10 %.

Tabla 4. Análisis microbiológicos del mejor tratamiento (harina de amaranto al 50 %, harina de trigo al 50 %, carne de pollo y proteína de soya al 3 %)

Tipo	Resultados
Coliformes totales (UFC·g ⁻¹)	<10 ¹
<i>E. coli</i> (UFC·g ⁻¹)	<10 ¹
<i>S. aureus</i> (UFC·g ⁻¹)	<10 ³
<i>Salmonella</i> (UFC·25 g ⁻¹)	ND

ND: no detectado

Al evaluar microbiológicamente al mejor tratamiento óptimo correspondiente a la formulación de harina de amaranto (50 %), harina de trigo (50 %) carne de pollo y proteína de soya (10 %) tal como se observa en la Tabla 4, la presencia coliformes totales, *Escherichia coli*, y *Staphylococcus aureus* fue menor a lo indicado por la norma reguladora para establecer los límites de vida útil. Con respecto a *Salmonella* no se detectó, por tanto se comprobó que las condiciones de inocuidad alimentaria cumplieron la norma NTE INEN 1338 (2012) durante el proceso de elaboración de las salchichas.

3.4 Estimación del tiempo de vida útil

La norma NTE INEN 1338 (2012) establece la identificación y conteo de aerobios mesófilos totales, *E. coli* y *S. aureus*, como requisitos microbiológicos para la determinación de vida útil en salchichas escaldadas. Toda vez que fue verificada la inexistencia de estos dos últimos microorganismos en el producto, la vida útil del producto se estimó a partir de los microorganismos alterantes más comunes en el producto, los aerobios mesófilos totales.

Considerando los datos de la Tabla 5, y el límite impuesto por la legislación vigente antes citada, cuyo valor máximo de aceptación es de 5×10^5 UFC·g⁻¹, se dedujo que dicho límite se alcanzó antes de finalizar el sexto día de almacenamiento en refrigeración a 4 °C.

Tabla 5. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos para estimar el tiempo de vida útil del mejor tratamiento (harina de amaranto al 50 %, harina de trigo al 50 %, carne de pollo y proteína de soya al 3 %)

Tiempo (días)	Mesófilos aerobios totales (UFC·g ⁻¹)
3	259200
6	518400
9	777600
12	1036800
15	1296000
18	1555200

4. CONCLUSIONES

La sustitución parcial de harina de trigo por harina de amaranto (*Amaranthus caudatus* L.) variedad INIAP-Alegría, no incidió en las características fisicoquímicas y sensoriales de las salchichas escaldadas elaboradas. Por tanto, la harina de amaranto resultó adecuada para la elaboración de estos productos, proporcionando, un valor agregado por su alto contenido proteico.

Se evaluó la calidad sensorial de las salchichas escaldadas confirmando que el porcentaje de sustitución óptimo de harina de trigo por harina de amaranto en la elaboración de salchichas escaldadas resultó ser del 50 %,

Los valores de pH de las distintas formulaciones se encontraron en un intervalo adecuado, tanto desde el punto de vista de la seguridad microbiológica, como de las características técnicas necesarias que permiten su elaboración.

Desde el punto de vista nutricional, el mejor tratamiento (formulación) resultó ser el compuesto por harina de amaranto al 50 %, harina de trigo al 50%), carne de pollo y proteína de soya al 3%. Dicha formulación permitió alcanzar un valor proteico más de un 3 % superior al encontrado en formulaciones comerciales.

Se estimó que el tiempo de vida útil del mejor tratamiento fue de casi 6 días a temperaturas de refrigeración de 4 °C, tiempo durante el cual, cumplió los requerimientos microbiológicos legalmente establecidos para productos cárnicos cocidos, constituyendo, de este modo, un producto altamente perecedero.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Alvarado, J. d. D. (1996). *Principios de Ingeniería aplicados a alimentos*. Quito (Ecuador): Radio Comunicaciones.

AOAC. (1923). AOAC Official Method 923.03. Ash of Flour. Direct Method. (pp. 1): AOAC INTERNATIONAL.

AOAC. (1943). AOAC Official Method 942.05. Ash of Animal Feed (pp. 1). : AOAC INTERNATIONAL.

AOAC. (1994). AOAC Official Method 991.14. Coliform and *Escherichia coli* Counts in Foods. Dry Rehydratable Film. (Petrifilm™ *E. coli*/Coliform Count Plate™ and Petrifilm™ Coliform Count Plate™) Methods (pp. 2). : AOAC INTERNATIONAL.

AOAC. (1996). AOAC Official Method 991.36. Fat (Crude) in Meat and Meat Products. Solvent Extraction (Submersion) Method (pp. 1). : AOAC INTERNATIONAL.

AOAC. (2003). AOAC Official Method 2003.08. Enumeration of *Staphylococcus aureus* in Selected Dairy Foods. 3M™ Petrifilm™ Staph Express Plate Method (pp. 2). : AOAC INTERNATIONAL.

AOAC. (2004). AOAC Official Method 2001.05. Rapid Enumeration of *Staphylococcus aureus* in Selected Foods. 3M™ Petrifilm™ Rapid S. aureus Count Plate Method (pp. 2). : AOAC INTERNATIONAL.

AOAC. (2005). AOAC Official Method 2001.11. Protein (Crude) in Animal Feed, Forage (Plant Tissue), Grain, and Oilseeds. Block Digestion Method Using Copper Catalyst and Steam Distillation into Boric Acid (pp. 3): AOAC INTERNATIONAL.

AOAC. (2006). AOAC Official Method 2003.07. Enumeration of *Staphylococcus aureus* in Selected Types of Processed and Prepared Foods. 3M™ Petrifilm™ Staph Express Plate Method (pp. 2). : AOAC INTERNATIONAL.

AOAC. (2007). AOAC Official Method 2003.11. Enumeration of *Staphylococcus aureus* in Selected Meat, Seafood, and Poultry. 3M™ Petrifilm™ Staph Express Count Plate Method (pp. 2). : AOAC INTERNATIONAL.

AOAC. (2009). AOAC Official Method 998.09. *Salmonella* in Foods. Colorimetric Polyclonal Enzyme Immunoassay Screening Method with Rappaport-Vassiliadis (R10) Broth and/or Tetrathionate Broth. 3M™ TECRA™ *Salmonella* Visual Immunoassay (VIA). 3M™ TECRA™ *Salmonella* ULTIMA™



- Immunoassay (pp. 5). : AOAC INTERNATIONAL.
- Castillo, P. (1999). *Elaboración de Jamón Adicionado con Harina de Amaranto*. BSc. Thesis, Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, México D. F. (México).
- Contreras, E., Jaimez, J., Porras, G., Juárez, L. F., Añorve, J., y Villanueva, S. (2010). Propiedades fisicoquímicas y sensoriales de harinas para preparar atole de amaranto. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 60(2), 184-191.
- Güemes, N. (2007). Utilización de los derivados de cereales y leguminosas en la elaboración de productos cárnicos. *Nacameh*, 1(2), 110-117. Retrieved from http://cbs.izt.uam.mx/nacameh/v1n2/nacameh_v1n2_110Guemes.pdf
- INEC. (2014). Ecuador en cifras. Índice de Precios al Consumidor (IPC). Canasta básica. Retrieved 30/03/14 <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/canasta/>
- INEN. (1985a). Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 0775. Carne y productos cárnicos. Clasificación de la carne vacuna. (pp. 4).
- INEN. (1985b). Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 0783. Carne y productos cárnicos. Determinación del pH (pp. 4).
- INEN. (1996). Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1525-15. Control microbiológico de los alimentos. Salmonella. Método de detección. (pp. 18).
- INEN. (2012). Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1338. Carne y productos cárnicos. Productos cárnicos crudos, productos cárnicos curados-madurados y productos cárnicos precocidos-cocidos. Requisitos (pp. 11).
- Salazar, D. (2014). *Manual de prácticas de Tecnología de Cárnicos* (1ª ed.). Ambato (Ecuador).
- Salinas, M. E. (2010). *Efecto de la sustitución de harina de trigo por harina de quinua (Chenopodium quinoa) para la formulación y elaboración de salchichas tipo Vienesas con características funcionales*. BSc. Thesis, Universidad Técnica de Ambato, Ambato (Ecuador).

DETERMINACIÓN DE AMILOSA EN PRESENCIA DE AMILOPECTINA EN ALMIDÓN DE ARROZ APLICANDO LA ESPECTROSCOPIA DERIVADA

DETERMINATION OF AMYLOSE IN THE PRESENCE OF AMILOPECTIN IN RICE STARCH APPLYING THE DERIVATIVE SPECTROMETRY

***A. Carrasqueño-Durán¹, P. B. Navas²**

⁽¹⁾Departamento de Química, Universidad Pedagógica Experimental Libertador (UPEL), Maracay, Venezuela

⁽²⁾Facultad de Agronomía, Instituto de Química y Tecnología, Universidad Central de Venezuela (UCV), Maracay, Venezuela

Artículo recibido: 23/01/15

Artículo aceptado: 27/05/15

RESUMEN

El método espectrofotométrico basado en la formación del complejo azul de yodo ha sido ampliamente utilizado para la cuantificación simple y rápida de amilosa. Sin embargo, la presencia de la amilopectina, que también forma un complejo coloreado con el yodo, interfiere en la determinación. Para reducir esta interferencia se aplicó la espectroscopia derivada (ED) y sus resultados fueron comparados con el método de la calibración directa (CD). Se prepararon disoluciones patrones que contenían amilosa y almidón ceroso de arroz como fuente de amilopectina para la calibración y validación de los modelos matemáticos. Los resultados de la CD produjeron valores sobreestimados de amilosa, mientras que al emplear la ED los resultados mostraron una mayor exactitud al reducirse el efecto de la interferencia de la amilopectina, sin la necesidad de la separación de ambos polisacáridos. Se propone el uso de la ED para la cuantificación del contenido verdadero de amilosa en el almidón de arroz.

Palabras clave: amilosa, amilopectina, quimiometría, primera derivada, espectros

ABSTRACT

The spectrophotometric method based on the blue iodine complex has been widely used for the simple and fast determination of amylose. However, the presence of amylopectin, which also forms a complex with iodine, interferes to the amylose determination. To reduce this interference, the derivative spectroscopy (DS) was applied and the results were compared with the direct calibration (DC). Standard solutions of amylose with variable amounts of rice waxy starch as the source of amylopectin were prepared for the calibration and validation of mathematical models. Results showed that the direct amylose determination gave results that over estimate the true content of this polysaccharide. The DS reduced the interference of amylopectin, providing accurate results with very low errors. It was proposed the used of DS for the accurate, precise and simple determination of amylose in rice starch.

Keywords: amylose, amylopectin, chemometrics, first derivative, spectra

* Autor de correspondencia: Armando Carrasquero Durán. E-mail: acarrasquerod@gmail.com



1. INTRODUCCIÓN

Es bien conocido que las propiedades de los almidones están condicionadas, entre otras cosas, por las concentraciones de sus dos polisacáridos más importantes: amilosa y amilopectina. Por ejemplo, el contenido de amilosa influye en propiedades como la gelatinización, retrogradación, solubilidad, textura entre otros (Xie et al., 2009), por lo que la cuantificación del contenido de amilosa es un aspecto importante para la caracterización y uso de los distintos almidones (Jansen et al., 2011).

Existen diversos métodos analíticos para la determinación de amilosa en los almidones de raíces, tubérculos y cereales. Por ejemplo, Mestres et al. (1996) han empleado la calorimetría de barrido diferencial para cuantificar estos polisacáridos. Con el mismo propósito, Stawski (2008) empleó el análisis termogravimétrico, con lo cual fue posible caracterizar cualitativa y cuantitativamente el tipo de polisacáridos presentes en un almidón. Algunas técnicas de separación como la cromatografía de exclusión de alta resolución se han adaptado para la determinación del contenido exacto de amilosa (Schwank et al., 1990).

Por otro lado, se han desarrollado otros métodos por vía húmeda, tal es el caso de las titulaciones potenciométricas y amperométricas (Schwank, et al., 1990). No obstante, muchos de estos métodos suelen ser costosos debido al equipamiento necesario o requieren de mucho tiempo para su ejecución, lo que limita su aplicación en los laboratorios donde deben ser analizadas cantidades grandes de muestras. Por tales razones, es muy frecuente el empleo del método colorimétrico desarrollado por Mc Cready et al., (1950), que se basa en la medición de la absorbancia de un complejo azul, que se forma cuando los iones I_3^- se ubican en el interior de las estructuras helicoidales que forman las moléculas de amilosa en disoluciones acuosas. La absorbancia de este complejo depende linealmente de la concentración de amilosa, por lo que se pueden establecer rectas de calibración de acuerdo al modelo matemático de la Ley de Beer-Lambert, para efectuar la determinación rápida y precisa de la concentración de este compuesto (Ávila et al., 2013), en lo que se denomina método de la calibración directa (CD).

El procedimiento ha sido ampliamente utilizado en distintos tipos de almidones, aportando resultados llamados "concentraciones aparentes de amilosa", sugiriendo que puede haber discrepancias con respecto al contenido real de este hidrato de carbono. La causa principal de las diferencias entre la concentración real y la obtenida por el método

analítico, es la presencia de la amilopectina, un polisacárido más ramificado que la amilosa que también produce un complejo coloreado con el ión triyoduro. Este complejo absorbe radiación electromagnética en la zona visible del espectro electromagnético, solapándose con la absorción debida al complejo de amilosa. Ello plantea la necesidad de desarrollar un método analítico, que sin perder la simplicidad y rapidez de un método espectrofotométrico, permita obtener resultados de mayor exactitud.

En este sentido, la quimiometría, que es una disciplina de la química donde se emplean modelos matemáticos y estadísticos para el tratamiento de los datos experimentales, ha sido muy utilizada para la resolución de mezclas de diferentes analitos, así como también para eliminar las interferencias que afectan a la cuantificación de una determinada sustancia (Chaydhary et al., 2011).

Se han desarrollado algunos métodos quimiométricos para la determinación de amilosa en presencia de amilopectina. Por ejemplo, Zhu et al. (2008) y Séne et al. (1997) han propuesto sistemas de ecuaciones lineales basados en la medición de la absorbancia a distintas longitudes de onda de mezclas de los complejos.

Una vez que se resuelven estos sistemas de ecuaciones, se obtienen las concentraciones de cada polisacárido. Sin embargo, la principal limitación de esos modelos reside en que puede ser necesario emplear sistemas de más de dos ecuaciones para obtener resultados exactos, lo cual complica el tratamiento matemático.

Otro procedimiento quimiométrico muy utilizado en la resolución de mezclas es la espectroscopía derivada (ED), que es una técnica en la cual se mide la pendiente de rectas tangentes en varios puntos de la curva que conforma el espectro de absorción de una sustancia. Estas pendientes representan la magnitud de los cambios que experimentan las absorbancias con el incremento de la longitud de la onda del haz de radiación que incide sobre el complejo absorbente. La primera derivada se puede calcular aplicando distintos procedimientos, entre los cuales está la siguiente Ecuación (1):

$$\left(\frac{\partial A}{\partial \lambda_{(nm)}} \right) = \frac{A_n - A_{n-1}}{\lambda_n - \lambda_{n-1}} \quad \text{Ec. 1}$$

En esa ecuación A_n y A_{n-1} representan las absorbancias a dos longitudes de ondas consecutivas (λ_n y λ_{n-1}). La representación gráfica de la primera

derivada frente a λ toma la forma de una curva continua que exhibe tres puntos característicos: un máximo positivo, que corresponde a la pendiente del punto en el cual el incremento de A en función a λ alcanza un valor máximo. Se observa también un valor mínimo negativo, que es debido a otro punto donde la pendiente de la recta tangente tiene un valor máximo, pero de signo negativo, ya que se ubica en el segmento de la curva del espectro donde la absorbancia disminuye. El tercer punto es conocido como el "punto de anulación", ya que el valor de la primera derivada se iguala a cero y coincide con el máximo de absorción del complejo absorbente. La primera derivada se anula en este punto, porque la recta tangente al punto de máxima absorción es totalmente horizontal y su pendiente se iguala a cero, siendo además, independiente de la concentración del compuesto en la disolución, ya que el máximo de absorción ocurre siempre a la misma λ y no varía con la concentración. Por lo tanto, si se efectúan las medidas en el punto de anulación de un componente en una mezcla, el valor medido será debido solamente a la contribución de los otros componentes de dicha mezcla (Castaño-Vidriales, 1991; Howard y Workman, 2003).

Aún cuando la ED se ha introducido desde hace varios años en la química analítica, no es frecuente encontrar ejemplos de su aplicación en el análisis de alimentos, debido a la dificultad que existía hace algunos años para disponer de equipos capaces de realizar en forma automática barridos espectrofotométricos. En la actualidad, se emplean instrumentos que disponen de convertidores de señales analógicas en digitales y que son controlados por computadores personales, los cuales registran automáticamente los espectros de absorción, y también realizan los cálculos necesarios para representar las derivadas de diversos órdenes para esos espectros.

En este estudio y debido a que la presencia de la amilopectina puede considerarse como una interferencia en la determinación exacta del contenido de amilosa (Fitzgerald et al., 2009), se consideró que la ED podría resolver una mezcla de los complejos Amilosa- I_3^- y Amilopectina- I_3^- por medios estrictamente matemáticos, sin tener que llevar a cabo la separación física de ambos complejos. Por lo tanto, el propósito de este trabajo fue el de emplear la ED en el desarrollo de un método analítico espectrofotométrico, simple y rápido para la determinación del contenido exacto de amilosa en presencia de la amilopectina en el almidón de arroz.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Reactivos

Se emplearon los siguientes reactivos de grado analítico: KOH, HCl, I_2 , KI suministrados por Sigma-Aldrich (Estados Unidos). El patrón de amilosa fue suministrado por Merck (Alemania). Para preparar las disoluciones se utilizó agua destilada y desionizada (Water Pro PS. Labconco, Estados Unidos).

2.2 Almidón de arroz

Para evaluar el efecto de la presencia de la amilopectina en la determinación de la amilosa, se empleó una harina de arroz ceroso con un contenido de amilopectina superior al 98 %.

2.3 Disoluciones patrones

Se pesó una masa de 100 ± 1 mg de amilosa y se colocó en un vaso de precipitados de 50 mL, se añadieron 10 mL de NaOH 2 M y se agitó continuamente hasta la disolución completa. Posteriormente se transfirió a un matraz aforado de 100 mL para completar hasta la marca con agua destilada-desionizada. De esta forma se obtuvo una disolución de trabajo de amilosa de $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$.

El almidón ceroso de arroz fue empleado como matriz para evaluar el efecto de la amilopectina en la determinación espectrofotométrica de amilosa. Para ello se pesaron 100 ± 1 mg de almidón, a los que se agregaron 10 mL de NaOH 2 M, se agitó continuamente hasta la completa disolución. Posteriormente se transfirió a un matraz aforado de 100 mL para completar hasta la marca con agua destilada-desionizada.

2.4 Patrones para la aplicación de los métodos quimiométricos

Se prepararon dos series de disoluciones patrón. Para la primera serie se agregaron, a matraces aforados de 10 mL, alícuotas de la disolución madre de amilosa que contenían entre 0,1 y 0,5 mg. Para la segunda serie de patrones se utilizó la disolución madre de almidón ceroso, de donde se tomaron alícuotas que representaban cantidades desde 0,8 a 4,0 mg, y que también se colocaron en matraces aforados de 10 mL. En estos matraces se desarrolló el color de los complejos por el método que se describirá más adelante y las disoluciones fueron empleadas para obtener los espectros de absorción, las primeras derivadas y las curvas de calibración de la amilosa.



Para la matriz de validación se prepararon 20 disoluciones en las cuales estuvieron presentes tanto la amilosa como la amilopectina proveniente del almidón ceroso de arroz a distintas concentraciones de ambos componentes, con el propósito de evaluar el efecto de la amilopectina en la cuantificación de la amilosa.

2.5 Formación del complejo amilosa-yodo

En matraces aforados de 10 mL se agregaron las alícuotas de amilosa y almidón soluble necesarias para obtener los distintos patrones. Se añadieron 2 mL de una disolución reguladora de ácido acético + acetato de sodio (0,5 M) a pH 3,6 y 2 mL de la disolución de I_2 (0,2 g) saturada con KI. Finalmente se completó hasta la marca del aforo con agua destilada-desionizada y se dejó en reposo por 10 minutos para permitir que se desarrollara el color de los complejos.

2.6 Equipos, análisis estadísticos y tratamiento de los datos

Se utilizó un espectrofotómetro Agilent 4853 con celdas de polietileno de 1 cm de paso de luz, el cual fue acoplado a un computador personal provisto del programa CHEMSTATION (Agilent, Estados Unidos) para el registro de los espectros de absorción y de la primera derivada entre los 350 y 700 nm, con un intervalo de 10 nm. Los tratamientos estadísticos de las calibraciones univariadas fueron realizados empleando el software estadístico TANAGRA 1.4.28 (Lyon, Francia).

Los límites de detección (L_D) y cuantificación (L_C) para cada método fueron calculados aplicando las Ecuaciones 2 y 3 (Badulescu et al., 2008)

$$L_D = \frac{3,3 \times S_a}{b} \quad \text{Ec. 2}$$

$$L_C = \frac{10 \times S_a}{b} \quad \text{Ec. 3}$$

Donde S_a es la desviación estándar de la ordenada en el origen y b la pendiente de las rectas de regresión.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Optimización de las condiciones experimentales para la formación del complejo amilosa-yodo

Se evaluó el efecto de variables como el pH, volumen de la disolución reguladora de ácido acético/acetato de sodio (1 mol L^{-1}) y el volumen de la disolución de I_2 -KI, sobre la absorbancia de una disolución que contenía 1 mg de amilosa.

Se pudo comprobar que la adición de 1 mL de la disolución reguladora a pH 3,6 junto con 100 μL de la mezcla de I_2 -I⁻ fue suficiente para alcanzar el máximo de absorción del complejo azul de amilosa a 630 nm, de tal forma que estas condiciones fueron consideradas como las óptimas para la determinación del analito.

3.2 Espectros de absorción de los complejos de amilosa- I_2 y amilopectina- I_2

La coloración azul que toma la disolución de amilosa al ser tratada con el I_2 se debe a la reacción entre el polímero y el halógeno, el cual se coloca en el centro de la estructura helicoidal que forma la amilosa en disolución acuosa (Yu et al., 1996), tal como se representa en la Figura 1.

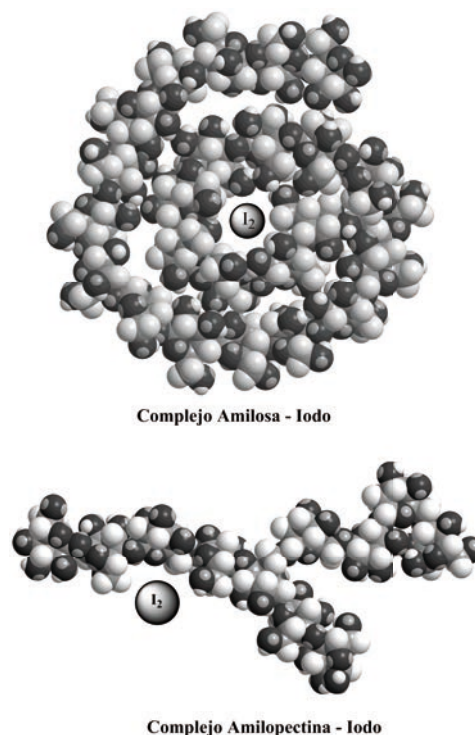


Figura 1. Estructuras moleculares de los complejos absorbentes

La amilopectina también puede formar un complejo con el yodo, pero debido a que el polisacárido tiene una estructura más ramificada, se dificulta la interacción entre las moléculas y por eso el complejo de amilopectina- I_2 exhibe una menor absorción de radiación.

En los espectros de absorción en la región visible para los complejos que forman, tanto la amilosa pura como la amilopectina presente en el almidón ceroso de

arroz (Figura 2), se observan máximos de absorción a 650 nm y 480 nm respectivamente, que coinciden con los valores reportados en otros estudios (Séne, et al., 1997). La amilopectina exhibe una banda de absorción que cubre desde los 450 hasta los 850 nm, coincidiendo con la banda de absorción de la amilosa.

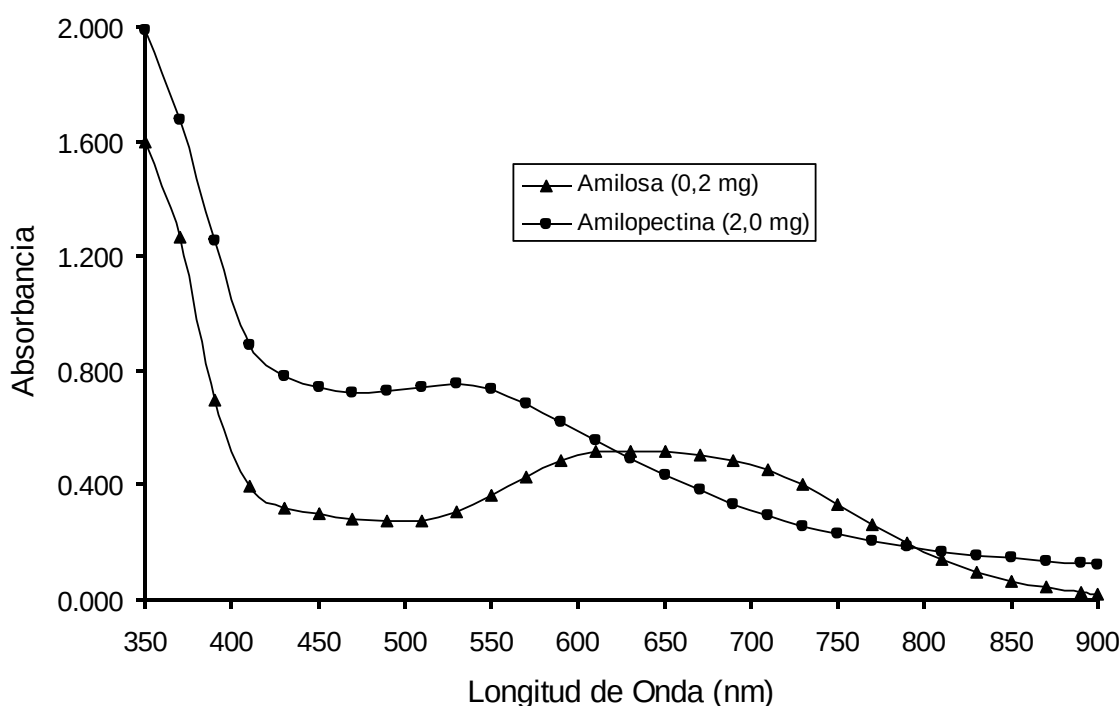


Figura 2. Espectros de absorción de los complejos amilopectina- I_2 y amilosa- I_2

Este solapamiento de las bandas de absorción es la razón de la interferencia que produce la amilopectina, obteniéndose resultados inexactos en la determinación de la amilosa, debido a que la absorbancia medida corresponde a la absorción simultánea de los dos complejos. Esto podría cuestionar la validez de los resultados basados en la “concentración aparente”, en aquellos almidones en los que estén presentes ambos polisacáridos, debido a que se estarían reportando contenidos de amilosa superiores a los verdaderos. En consecuencia, se hace necesaria la eliminación de esta interferencia, para lo cual se pueden emplear métodos de separación como

la cromatografía o la precipitación fraccionada. Sin embargo, ya se ha señalado que dichos métodos son, o bien muy costosos por los equipos necesarios, o consumidores de mucho tiempo.

Al representar la primera derivada del espectro de la amilosa (Figura 3) se observó la presencia de un pico máximo a 560 nm y otro mínimo a 760 nm, que corresponden a las longitudes de onda en las cuales las pendientes de un punto tangente a la curva del espectro toman un valor máximo positivo o negativo (Howard y Workman, 2003).

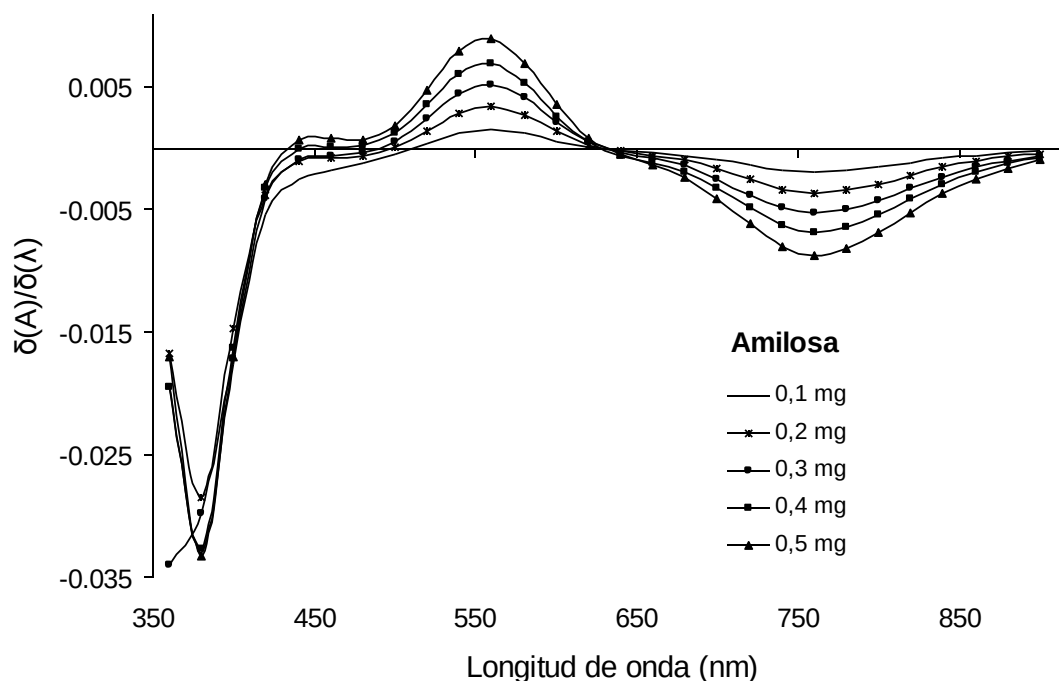


Figura 3. Primera derivada del espectro del complejo amilosa- I_2

Por otro lado, a 630 nm, la primera derivada del espectro se iguala a cero, ya que corresponde al máximo de absorción del complejo de amilosa- I_2 , donde la pendiente del punto tangente se anula.

Con respecto a la amilopectina, la primera derivada muestra valores máximos y mínimos a 500 y 600 nm respectivamente (Figura 4), mientras que el punto de anulación se ubicó a 540 nm, coincidiendo con el máximo de absorción del complejo con yodo. Se pudo comprobar que el punto de anulación cumplió con la propiedad de ser independiente de la concentración de la amilopectina. A esa misma longitud de onda, la primera derivada de la amilosa toma valores positivos y proporcionales a la concentración.

En otras palabras, el valor que se obtenga para la primera derivada del espectro de una mezcla de amilosa y amilopectina a 540 nm, se deberá

únicamente a la presencia del polisacárido lineal, anulándose de esta forma el efecto de la interferencia del otro compuesto presente en el almidón de arroz.

3.2 Aplicación de la CD y primera derivada del espectro de absorción en la determinación de amilosa en presencia de amilopectina

A partir de los contenidos de amilosa en los patrones de calibración y sus respectivas absorbancias a 630 nm, se aplicó la CD, para la cual se calculó la ecuación de regresión según el modelo de Beer-Lambert (Miller y Miller, 2008). La Tabla 1 muestra un coeficiente de regresión cercano a la unidad que confirmó la relación lineal entre la absorbancia y la concentración del complejo de yodo, tal como lo establece el método de Mc Cready.

Tabla 1. Parámetros estadísticos de las ecuaciones de regresión

Parámetros Estadísticos	Calibración Directa ($\lambda = 630 \text{ nm}$)	Primera derivada ($\lambda = 540 \text{ nm}$)
Coefficiente de determinación (R^2)	0,9997	0,9996
Pendiente (b)	2,364	0,01663
Desviación estándar de b (S_b)	0,023	0,00017
Ordenada en el origen (a)	0,055	-0,00047
Desviación estándar de a (S_a)	0,007	0,00006
Límite de detección (mg)	0,01	0,01
Límite de cuantificación (mg)	0,03	0,04

Tabla 2. Determinación de amilosa en presencia de amilopectina aplicando los tres métodos quimiométricos

Muestra	mg presentes		mg de amilosa calculados ⁽¹⁾	
	Almidón ceroso	Amilosa	CD	ED
1	0,00	0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
2	0,00	0,30	0,32 $\pm$ 0,02	0,29 $\pm$ 0,01
3	0,70	0,00	0,60 $\pm$ 0,02	0,00 $\pm$ 0,00
4	0,70	0,30	0,36 $\pm$ 0,02	0,28 $\pm$ 0,01
5	0,90	0,10	0,21 $\pm$ 0,01	0,07 $\pm$ 0,01
6	0,80	0,20	0,27 $\pm$ 0,02	0,18 $\pm$ 0,01
7	1,00	0,50	0,58 $\pm$ 0,02	0,49 $\pm$ 0,02
8	1,00	1,00	1,14 $\pm$ 0,03	1,02 $\pm$ 0,03
9	0,80	0,10	0,16 $\pm$ 0,01	0,08 $\pm$ 0,01
10	0,75	0,15	0,21 $\pm$ 0,01	0,12 $\pm$ 0,01
11	1,00	0,25	0,42 $\pm$ 0,02	0,22 $\pm$ 0,02
12	0,70	0,12	0,24 $\pm$ 0,01	0,10 $\pm$ 0,01
13	0,60	0,23	0,32 $\pm$ 0,02	0,23 $\pm$ 0,02
14	1,50	0,40	0,62 $\pm$ 0,03	0,38 $\pm$ 0,02
15	0,60	0,16	0,22 $\pm$ 0,01	0,14 $\pm$ 0,01
16	1,20	0,10	0,27 $\pm$ 0,01	0,06 $\pm$ 0,01
17	0,50	0,50	0,59 $\pm$ 0,02	0,50 $\pm$ 0,02
18	0,80	0,60	0,72 $\pm$ 0,03	0,61 $\pm$ 0,02
19	1,00	0,30	0,47 $\pm$ 0,02	0,27 $\pm$ 0,02
20	1,50	0,23	0,44 $\pm$ 0,02	0,20 $\pm$ 0,02
Error absoluto⁽²⁾			0,13 $\pm$ 0,05	0,02 $\pm$ 0,01

⁽¹⁾Valores promedio y desviaciones típicas (n=3)

⁽²⁾Valor promedio e intervalo de confianza del 95% (n=20)



Por otro lado, para la ED se emplearon los valores de la primera derivada del espectro de la amilosa a 540 nm ya que, como se ha señalado, esa longitud de onda correspondía al punto de anulación del complejo de amilopectina. También se obtuvo una ecuación de regresión lineal, con un coeficiente de determinación cercano a la unidad, estableciéndose de esta manera la dependencia lineal del valor de la primera derivada a 540 nm con la concentración del amilosa en el complejo.

Con respecto a los límites de detección, los resultados indicaron que ambos métodos resultaron equivalentes en su capacidad para detectar la presencia de la amilosa, con un L_D de 0,01 mg en ambos casos. En lo que respecta al límite de cuantificación, la ED produjo un valor ligeramente más elevado (0,04 mg) que la CD (0,03 mg).

Para el cálculo de los contenidos de amilosa en los patrones de validación, se utilizaron los valores de las pendientes y ordenadas en el origen, obtenidos tanto por CD como por la ED. La Tabla 2 muestra tanto los contenidos reales de amilosa para cada patrón de validación y los valores calculados por ambos métodos quimiométricos.

Las mayores diferencias entre los valores reales y los calculados se produjeron con la CD. Por ejemplo, en el caso de la muestra 3, se obtuvo un contenido de amilosa de 0,6 mg, que no es verdadero, ya que esa muestra sólo contenía almidón ceroso. En los restantes patrones se apreció una sobreestimación del contenido del polisacárido que fue mayor, a medida que el contenido de amilopectina proveniente del almidón ceroso también era mayor. Como ya se ha señalado, esta sobreestimación es debida al aporte que hace el complejo amilopectina- I_2 a la absorbancia medida a la longitud de onda de trabajo.

Para estimar el error que se comete al aplicar cada modelo matemático se calculó el error absoluto, para lo cual se restó al valor verdadero de amilosa el valor calculado con las ecuaciones de regresión. Los resultados de signo negativo indicaban la sobreestimación del valor verdadero, mientras que un error de signo positivo representaba una subestimación del valor real de amilosa en el patrón de validación.

El error absoluto promedio fue representado por la media aritmética de los valores absolutos de todos los

errores, independientemente de que su valor fuese negativo. Los resultados indicaron que en la calibración directa el error promedio fue de 0,13 mg, que estuvo muy por encima de los límites de detección y cuantificación para este método. En consecuencia es posible reportar o bien la presencia de amilosa en muestras en las cuales esté ausente esta molécula o contenidos superiores a los realmente presentes en un almidón.

Al reducir el efecto de la interferencia de la amilopectina aplicando la ED, el error promedio disminuyó hasta 0,02 mg, que fue inferior a los límites de cuantificación y detección, impidiéndose de esta forma la posibilidad de detectar la presencia de la amilosa cuando la molécula no esté realmente presente.

La representación gráfica de los errores absolutos para cada método de cuantificación en función a la cantidad de almidón ceroso presente (Figura 4), mostró que en el caso de la CD los errores estuvieron seriamente afectados por la presencia de la amilopectina. A medida que la cantidad de interferente fue mayor, el error absoluto se incrementó, siendo siempre de signo negativo, evidenciándose la sobreestimación cada vez mayor de la amilosa.

Por otro lado, al usar la ecuación de regresión de la primera derivada del espectro, los errores absolutos fueron menores y se distribuyeron de manera aleatoria, entre los valores -0,01 y 0,05 mg (Figura 5). Esto evidencia que estos errores fueron independientes de la cantidad de amilopectina presente. Esto demostró que el método matemático basado en la primera derivada del espectro pudo eliminar el efecto de la interferencia de la amilopectina sin tener que recurrir a la separación física.

Otros criterios de calidad para un método analítico son la repetibilidad y reproducibilidad de los resultados. En este trabajo se pudo comprobar que tanto la calibración directa como la ED produjeron resultados repetibles y reproducibles, con errores inferiores al 1 %.

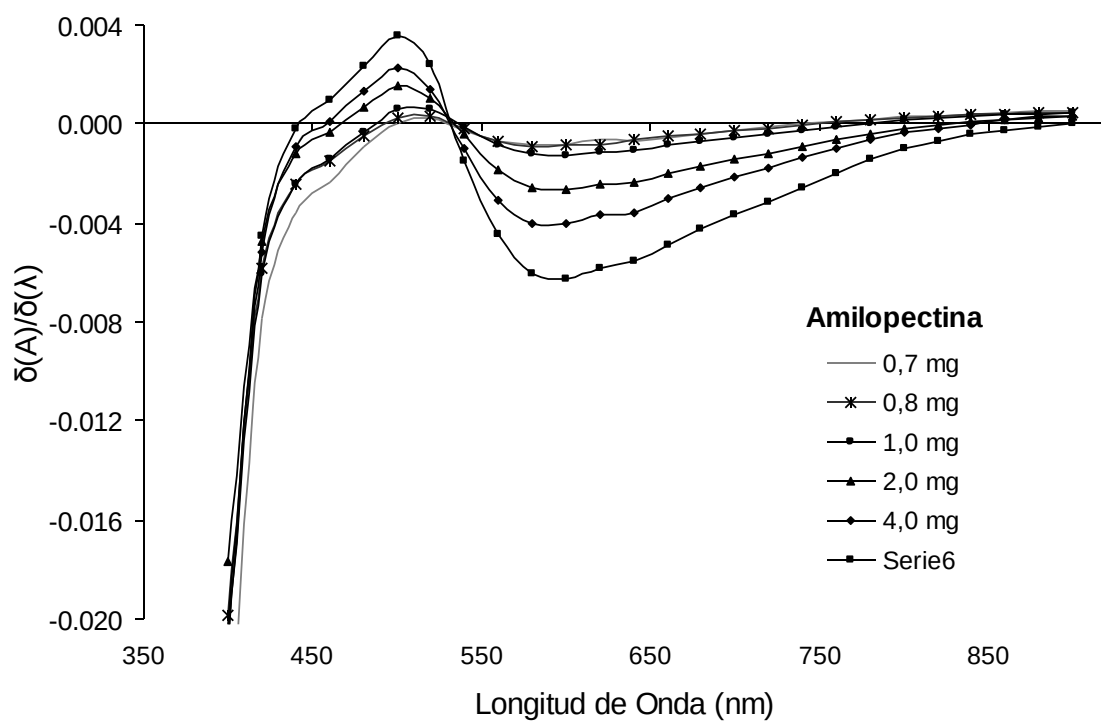


Figura 4. Primera derivada del espectro del complejo amilopectina- I_2

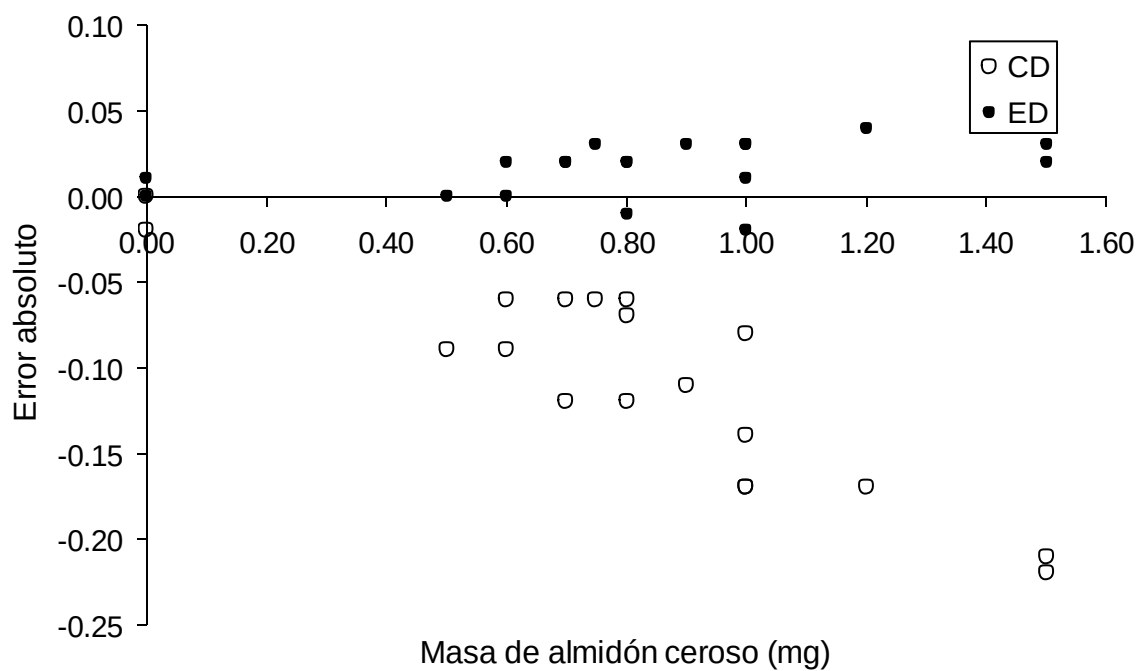


Figura 5. Dependencia del error absoluto de predicción con respecto al contenido de amilopectina presente



4. CONCLUSIONES

Con base en los resultados de este trabajo se puede concluir que la amilopectina, al producir un complejo coloreado con el yodo, interfiere en la determinación espectrofotométrica de la amilosa y, en consecuencia, la determinación del contenido de “amilosa aparente” por CD, si bien puede producir resultados altamente precisos, estos tienden a ser sobreestimados y de poca exactitud.

En segundo lugar, se puede concluir que la espectroscopia derivada es un procedimiento sencillo en el cual el espectrofotómetro registra por medio de su propio software controlador los valores de la primera derivada de los espectros electromagnéticos del complejo amilosa- I_2 . A partir de allí se pueden calcular las rectas de calibración, sin que ello implique modificaciones importantes al método original de determinación de la amilosa. Los resultados obtenidos son de mayor precisión y exactitud en comparación con los que aporta la calibración directa.

Por último, se concluye que la espectroscopia derivada puede emplearse en la determinación del contenido en amilosa del almidón de arroz, a fin de obtener resultados precisos y exactos de una manera simple, rápida y con espectrofotómetros de uso común en la mayoría de los laboratorios de análisis de alimentos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ávila, M., Ávila, J., Hernández, H., Verde, O., Romero, M., y Alejos, J. (2013). Evaluación de la precisión de dos laboratorios venezolanos para la determinación de amilosa aparente en arroz (*Oryza sativa* L.) pulido. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de los Alimentos*, 4(1), 24-31.
- Badulescu, M., Balalau, D., Căcovenan, I., Ilie, M., y Baconi, D. (2008). UV-VIS Spectrophotometric assay of metoprolol. Note 2. Method Validation. *Farmacia*, 56(4), 363-370.
- Castaño-Vidriales, J. J. (1991). Espectrometría derivada en química clínica. *Química Clínica*, 10(5), 347-359.
- Chaydhary, J., Jain, A., y Saini, V. (2011). Simultaneous estimation of multicomponents formulations by UV-Visible spectroscopy: an overview. *International Journal of Pharmacy*, 2(12), 81-83.
- Fitzgerald, M. A., Bergman, C. J., Resurreccion, P., Möller, J., Jimenez, R., Reinke, R. F., et al. (2009). Addressing the dilemmas of measuring amylose in rice. *Cereal Chemistry*, 86(5), 492-498.
- Howard, M., y Workman, J. (2003). Derivatives in spectroscopy. *Spectroscopy*, 18(4), 32-37.
- Jansen, G., Ordon, F., Knopf, E., y Dieckmann, K. (2011). Rapid methods for selecting single kernels of waxy barley. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 84, 6-10.
- Mc Cready, R. M., Guggolz, J., Silveira, V., y Owens, H. S. (1950). Determination of starch and amylose in vegetables, application to peas. *Analytical Chemistry*, 22(9), 1156-1158.
- Mestres, C., Matencio, F., Pons, B., Yajid, M., y Flidel, G. (1996). A rapid method for determination of amylose content by using differential scanning calorimetry. *Starch/Stärke*, 48(1), 2-6.
- Miller, J. N., y Miller, J. C. (2008). *Estadística y quimiometría para química analítica* (4ª ed.). Madrid (España): Pearson Education.
- Schwank, U., Jacobi, A., Drawert, F., y Fischbeck, G. (1990). Halbkornmethode zur bestimmung des Amylosegehalts in Gerste. *Starch/Stärke*, 42, 86-89.
- Séne, M., Thévenot, C., y Prioul, L. J. (1997). Simultaneous Spectrophotometric Determination of Amylose and Amylopectin in Starch from Maize Kernel by Multi-wavelength Analysis. *Journal of Cereal Science*, 26, 211-221.
- Stawski, D. (2008). New determination method of amylose content in potato research. *Food Chemistry*, 110, 777-781.
- Xie, F., Long, L., Su, B., Liu, P., Wang, J., Liu, H., et al. (2009). Rheological properties of starches with different amylose/amylopectin ratios. *Journal of Cereal Science*, 49, 371-377.
- Yu, X., Houtman, C., y Atalla, R. H. (1996). The complex of amylose and Iodine. *Carbohydrate Research*, 292, 129-141.
- Zhu, T., Jackson, D. S., Wehling, R. L., y Geera, B. (2008). Comparison of amylose determination methods and the development of a dual wavelength iodine binding technique. *Cereal Chemistry*, 85(1), 51-58.

DESARROLLO DE PRODUCTOS CÁRNICOS FUNCIONALES: UTILIZACIÓN DE HARINA DE QUINUA

DEVELOPMENT OF FUNCTIONAL MEAT PRODUCTS: USE OF QUINOA FLOUR

*M. A. Peña¹, B. O. Méndez², M. A. Guerra³, S. A. Peña⁴

⁽¹⁾Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad del Azuay (UDA), Cuenca, Ecuador

⁽²⁾Investigador Prometeo, Facultad de Ingeniería Mecánica y Ciencias de la Producción, Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL), Guayaquil, Ecuador

⁽³⁾Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia (IIIA), La Habana, Cuba

⁽⁴⁾Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Cuenca (UC), Cuenca, Ecuador

Artículo recibido: 14/03/15

Artículo aceptado: 20/05/15

RESUMEN

El presente trabajo fue desarrollado con el objetivo de elaborar un producto cárnico funcional tipo salchicha, bajo en grasa, mediante la adición de harina de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.), de origen ecuatoriano. Para ello se realizaron experimentos con combinaciones de harina de quinua (0 a 10 %) y grasa (8 a 12 %), empleando carragenato al 1% en las formulaciones. A fin de evaluar las salchichas obtenidas en cada experimento se determinó: composición físico-química, análisis de perfil textura, análisis microbiológicos y evaluación sensorial. Tomando como referencia criterios reológicos y sensoriales, la combinación con un 5% de harina de quinua y 8% de grasa resultó ser la mejor variante. Se caracterizó el material de envase y se determinó la vida útil de las salchichas seleccionadas envasadas al vacío, estudiando dos tratamientos posteriores: uno refrigeradas y el otro repasteurizadas-refrigeradas manteniendo en ambos casos una temperatura de 2-4 °C. Las muestras se caracterizaron al inicio y final del ensayo desde el punto de vista físico-químico y reológico, durante todo el estudio se realizaron análisis microbiológicos y evaluación sensorial, que mediante criterio aceptación y rechazo se determinó una vida útil de 34 días para las salchichas envasadas al vacío refrigeradas y 127 días para las muestras repasteurizadas-refrigeradas mediante el gráfico de riesgos de Weibull.

Palabras clave: grasa, quinua, refrigeración, repasteurización, salchicha, vida útil.

ABSTRACT

This work was developed with the goal of producing a new low fat meat sausage product, by adding wild quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) from Ecuador. For this experiment several combinations of quinoa flour and fat were used: quinoa flour (0 to 10 %) and fat (8 to 12 %), using carrageenan 1 % as an ingredient in the formulations.

For each sausage physico-chemical composition, texture profile analysis, sensory evaluation and microbiological analyses were carried out. Taking as reference rheological and sensory criteria, the combination with 5% quinoa flour and 8 % fat proved to be the best variant.

The packaging material was characterized and the shelf life was determined for the sausages by studying two different treatments: a vacuum packed, refrigerated product and the other a vacuum packed, re-pasteurized, refrigerated product in both cases maintaining a temperature of 2-4 ° C. The samples were studied at the beginning and the end of the experiment by physicochemical analysis, rheological characterization, throughout the study microbiological analysis and sensory evaluation were carried out. For the study on shelf life an acceptance and rejection criteria was used. The shelf life of the vacuum packed, refrigerated sausages was 34 days, while the vacuum packed, re-pasteurized refrigerated sausages lasted 127 days by risk graph Weibull.

Keywords: fat, quinoa, refrigeration, re-pasteurized, sausage, shelf life.

* Autor de correspondencia: Maria Alicia Peña. E-mail: mpenag@uazuay.edu.ec



1. INTRODUCCIÓN

Los avances en los conocimientos de los consumidores en torno a la relación dieta-salud, está favoreciendo la aparición de nuevos productos entre los cuales ocupan un papel muy destacado los alimentos cárnicos (Egbert et al., 1991).

La carne y los productos cárnicos aportan numerosos nutrientes con efectos selectivos beneficiosos sobre ciertas funciones del organismo, pero también contienen diversas sustancias que, en determinadas circunstancias y en proporciones inadecuadas, pueden afectar negativamente la salud. Algunas de estas sustancias son añadidas durante la elaboración del producto, o son formadas a lo largo de su procesado, conservación o consumo (Jiménez-Colmenero, 2004).

Los principales problemas asociados al consumo de los derivados cárnicos son el contenido de grasa y sodio que aportan a la dieta (Totosaus, 2007). El alto consumo de grasas podría inducir a enfermedades cardiovasculares y ciertos tipos de cáncer. Por tanto, la satisfacción de las necesidades totales de energía ha de hacerse a través de un adecuado balance de alimentos, moderando el consumo de grasas (Carrillo et al., 2011).

El contenido de grasa en los embutidos está en un 20 a 40 % del peso por lo que se ha visto la conveniencia de reducirlo (Totosaus, 2007).

Una gran variedad de métodos han sido desarrollados para reducir el contenido de grasa en derivados cárnicos. Los derivados proteicos de origen vegetal han sido utilizados en la elaboración de productos cárnicos con propósitos tecnológicos, para disminuir el contenido de grasa, o para rebajar costos de formulación e incluso por su valor nutritivo (Jiménez-Colmenero, 1996). Proteínas vegetales como la derivada de la quinua han sido empleadas en la elaboración de productos cárnicos considerando la cantidad y distribución de aminoácidos esenciales (M. A. Guerra, 1998) así como el contenido de grasas de alto valor biológico debido a su gran porcentaje de ácidos grasos no saturados. (FAO, 2011).

Ecuador es el tercer país con mayor producción de quinua a nivel mundial (MAGAP, 2013). La FAO

la catalogó como el “grano de oro” por sus excelentes propiedades nutricionales (Villacrés et al., 2011). Presenta un alto contenido de carbohidratos (50 a 60 % de almidón, el cual gelatiniza a una temperatura entre 55 y 65 °C), lo que hace que se emplee como un cereal (Romo et al., 2006). El alto contenido de grasa y proteína diferencia a la quinua del resto de los cereales como trigo, cebada, maíz o arroz y es comparable con productos de origen animal como el huevo, la leche o la carne (Jacobsen y Sherwood, 2002).

El objetivo del presente trabajo fue establecer el potencial efecto que presenta la adición de harina de quinua, con el fin de elaborar productos cárnicos emulsificados que sean nutritivos, con bajo contenido en grasa y que cumplan con los requisitos nutricionales y de calidad.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Para la elaboración de salchichas se empleó carne de cerdo con un contenido de grasa del 5 % y tocino de lomo. Estas materias primas se obtuvieron de cerdos con 48 horas de almacenamiento refrigerado *post-mortem*.

Como ingredientes no cárnicos se utilizó harina de quinua (MasCorona, Ecuador) y carragenato (Fai Berti S.L., España), por sus conocidas propiedades funcionales y nutricionales, actuando sobre las pérdidas de agua en la cocción y la estabilidad de la emulsión (Ahmed et al., 1990; Matulis et al., 1995; Selgas et al., 2005). Además, se utilizó una solución de colorante Rojo Ponceau 4R, sales, condimentos y humo líquido.

Se utilizó un diseño factorial 3², variando la cantidad de harina de quinua: X₁ (0 a 10 %) y grasa: X₂ (8 a 12 %). El resto de los componentes se mantuvieron constantes.

Los valores máximos y mínimos de la harina de quinua y tocino de lomo y el porcentaje de carragenato fueron seleccionados en función de los resultados preliminares y reportes de la literatura (M. Guerra et al., 2001; Jiménez-Colmenero, 1995). De este procedimiento se definieron nueve combinaciones experimentales (Tabla 1).

Tabla 1. Puntos experimentales (Diseño factorial).

Formulación	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Harina de quinua (%)	0	5	10	0	5	10	0	5	10
Tocino de lomo (%)	8	8	8	10	10	10	12	12	12

Se elaboraron 4 kg de salchichas de acuerdo a cada combinación experimental. De cada una de las variables se procesaron tres corridas experimentales.

El proceso de elaboración fue el mismo que se usa habitualmente para la elaboración de la salchicha tradicional. Se prepararon piezas de 45 g empleando tripas impermeables de poliamida 6 (Kalle Nalo,

España) de 22 mm de diámetro, y se envasaron en bolsas al vacío.

La carne fue caracterizada mediante las siguientes determinaciones: humedad (DISAIC, 2005), grasa (DISAIC, 2004b), proteína (DISAIC, 2006) y pH (DISAIC, 2004a).

Para caracterizar la harina de quinua las siguientes determinaciones físico-químicas fueron ensayadas: humedad (DISAIC, 2002), ceniza (DISAIC, 2002), proteína (DISAIC, 2009), fibra (Asp et al., 1983), pH (AOAC, 2005), así como las propiedades funcionales: capacidad de retención de agua, capacidad de retención de grasa (Lin et al., 1974) y temperatura de gelatinización (ICC, 1992).

Además se elaboró una salchicha control (tradicional) con un 60 % de carne de cerdo, un 25 % de grasa y un 2 % de proteína aislada de soya.

En las salchichas obtenidas, se determinó la humedad, proteína, pH y grasa, mediante los métodos anteriormente reportados para carne, además de cenizas (DISAIC, 2006), cloruro de sodio (DISAIC, 2004c) y nitrito de sodio (DISAIC, 2004a).

Los análisis microbiológicos fueron: conteo total de aerobios mesófilos (DISAIC, 2014), conteo de coliformes fecales (DISAIC, 2010), conteo de coliformes totales (DISAIC, 2010), conteo de mohos y levaduras totales (DISAIC, 2014), conteo de psicrófilos (en Agar Plate Count, APC, 4 a 7 días, 2 a 4 °C), conteo de bacterias ácido lácticas (en medio de cultivo agar MRS, 24 h, 37 °C), la presencia o no de *Salmonella* (DISAIC, 2008) y conteo de *Staphylococcus* coagulasa positivos (DISAIC, 2003).

La calidad sensorial fue evaluada por 12 jueces experimentados, empleando una escala de valoración de calidad estructurada de siete puntos (1: pésimo y 7: excelente) para los atributos aspecto, textura, sabor y color. Para la jugosidad se utilizó una escala de siete puntos no estructurada (1: extremadamente seca y 7: extremadamente jugosa).

Para el perfil de textura se aplicó una prueba de compresión doble con un texturómetro universal Instron, modelo 1140 (ITW, USA). Se comprimió diametralmente hasta un 75 % a una velocidad de 20 cm·min⁻¹. A partir del gráfico fuerza-distancia, se determinaron las siguientes propiedades: dureza, elasticidad y cohesividad (Bourne, 1978).

Se caracterizó el material de envase (tripas impermeables y bolsas para envasado al vacío), mediante un espectrofotómetro infrarrojo (Bruker, Suiza), en un rango de medición entre 4000–600 cm⁻¹. Se determinaron las propiedades físico-mecánicas de: peso base (DISAIC, 1999), espesor (ASTM, 2013) y resistencia a la tensión y elongación (DISAIC, 2012), así como a la permeabilidad al vapor de agua (DISAIC, 2010) y la resistencia del sellado térmico (ASTM, 2009).

Se realizó la selección de la mejor variante y la optimización para el espacio de diseño acotado. Para ello se impusieron restricciones, Tabla 2, que fueron fijadas en base a la formulación tradicional y criterios de diferentes especialistas (M. Guerra et al., 2011). Así mismo, se estableció priorizar el menor contenido de grasa con el objetivo de obtener un alimento funcional y económico.

Tabla 2. Restricciones impuestas al sistema para la optimización.

Variable Respuesta	Restricción
Dureza instrumental	5 a 8 kg
Elasticidad instrumental	6 a 8 mm
Aspecto	> 5
Textura	> 5
Sabor	> 5
Color	> 5
Jugosidad	3 a 4

(Siendo 1: pésima valoración y 7: excelente)

Los atributos sensoriales y los parámetros de perfil de textura, se procesaron mediante el programa “Design Expert Analysis” versión 7 para ajustar los modelos, generar las ecuaciones y sus correspondientes superficies de respuesta. El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante el programa Statgraphics Centurion XVI. A los resultados físico químicos y microbiológicos de los productos, se les determinó la media y la desviación estándar.

Para el estudio de vida útil se tomaron las formulaciones seleccionadas, se procesaron nuevos lotes de salchichas y se realizaron dos tratamientos de conservación: refrigeración (2-4 °C) y repasteurización (baño maría a 80 °C/10 min) seguida de refrigeración (2-4 °C).

Durante este estudio se realizaron análisis físico-químicos, microbiológicos, evaluación sensorial y de textura instrumental al inicio del estudio y en el momento de rechazo.



Para determinar la vida útil del producto se aplicó el gráfico de riesgos de Weibull, utilizando un intervalo de confianza del 95 % (Cardelli y Labuza, 2001).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 3 muestra los contenidos de humedad, grasa, ceniza, proteína, almidón y fibra, así como el

valor del pH de la harina de quinua. Los valores obtenidos están en el entorno de lo encontrado para otras harinas de quinua, aunque su contenido de proteína es más alto que el de la harina de trigo (10,10%) y la de plátano (2,31%) (Cerezal et al., 2007).

Tabla 3. Composición físico-química de la harina de quinua

Humedad (%)	Proteína (%)	Ceniza (%)	Almidón (%)	Fibra (%)	pH
9,52 (0,02)*	11,47 (0,85)*	2,15 (0,03)*	57,40 (1,56)*	6,24 (2,65)*	6,1

*(): Desviación estándar; n= 3

Los valores de capacidad de retención de agua (CRA) y capacidad de retención de grasa (CRG) se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4. Propiedades funcionales de la harina de quinua.

Harina	CRA (g agua / g muestra)	CRG (g grasa /g muestra)
Quinua	1,46 (0,05)*	0,41 (0,05)*
Trigo ¹	0,627	0,384
Plátano ¹	2,18	0,442

*() Desviación Estándar. ¹Fuente: Cerezal et al. (2007)

A partir de los resultados obtenidos se podría deducir que la harina de quinua es capaz de retener más agua que la harina de trigo, pero si estos valores se comparan con los de la harina de plátano, el valor es menor, aspecto que podría explicarse por sus componentes, como las amilopectinas (M. Guerra, et al., 2011). Su capacidad de retención de aceite también es alta en relación con otros cereales.

La temperatura de gelatinización obtenida fue de 57,1 °C lo que concuerda con lo señalado por la literatura que reporta temperaturas de gelatinización de 55 a 65 °C para el almidón de la harina de

quinua (Romo, et al., 2006). La baja temperatura de gelatinización de dicho almidón favorece su empleo en alimentos que se someten a tratamientos térmicos poco intensos ya que puede garantizar la gelatinización y mayor funcionalidad. En productos cárnicos, por ejemplo, dicha temperatura de gelatinización está por debajo de la temperatura final de cocción (72 °C).

Los resultados de los análisis de composición química y pH de las formulaciones propuestas en el diseño se reflejan en la Tabla 5.

Tabla 5. Composición proximal de las salchichas experimentales.

Fórmula	Harina (%)	Grasa (%)	Humedad (%)	Grasa (%)	Proteína (%)	NaCl (%)	NaNO3 (ppm)	pH
1	0	8	74,10 (0,32)	8,50 (2,32)	10,87 (1,92)	1,50 (0,05)	92,34 (0,14)	6,1
2	5	8	69,98 (0,28)	8,10 (1,3)	12,28 (1,85)	2,00 (0,02)	74,18 (0,11)	6,3
3	10	8	67,68 (0,11)	8,62 (2,52)	13,42 (0,98)	1,83 (0,02)	83,45 (0,07)	6,2
4	0	10	72,56 (0,33)	10,40 (2,03)	10,89 (1,23)	1,97 (0,01)	85,93 (0,20)	6,1
5	5	10	68,44 (0,04)	10,78 (1,57)	12,00 (0,89)	1,98 (0,02)	95,14 (0,06)	6,0
6	10	10	65,89 (0,35)	11,26 (3,26)	12,98 (0,76)	2,03 (0,04)	82,10 (0,02)	6,3
7	0	12	71,04 (0,01)	11,89 (1,49)	10,95 (1,39)	1,94 (0,1)	90,38 (0,15)	6,0
8	5	12	67,12 (0,06)	11,40 (2,28)	12,13 (0,79)	2,05 (0,09)	87,91 (0,07)	6,1
9	10	12	62,09 (0,13)	12,20 (3,26)	13,15 (2,16)	1,89 (0,02)	89,20 (0,42)	6,1
Control			58,48 (0,02)	24,00 (2,36)	12,59 (1,56)	1,62 (0,03)	79,76 (0,01)	6,2

(*) Desviación Estándar; n= 2

El contenido de humedad varió desde 62,09 hasta 74,10 %, la grasa desde 8,1 hasta 12,2 %, y la proteína desde 10,87 hasta 13,42 %. Las variaciones en el porcentaje de proteínas fueron dadas por la utilización de harina de quinua, teniendo en cuenta que se fijó el nivel de proteína cárnica para todas las formulaciones y que la disminución del contenido de grasa se realizó a costa de aumentar la cantidad de agua añadida.

Como se puede observar los valores de proteína fueron mayores al aumentar la concentración de harina de quinua, tal como se esperaba. Estos resultados concuerdan con los trabajos reportados por Salinas (2010). Los resultados microbiológicos se pueden observar en la Figura 1.

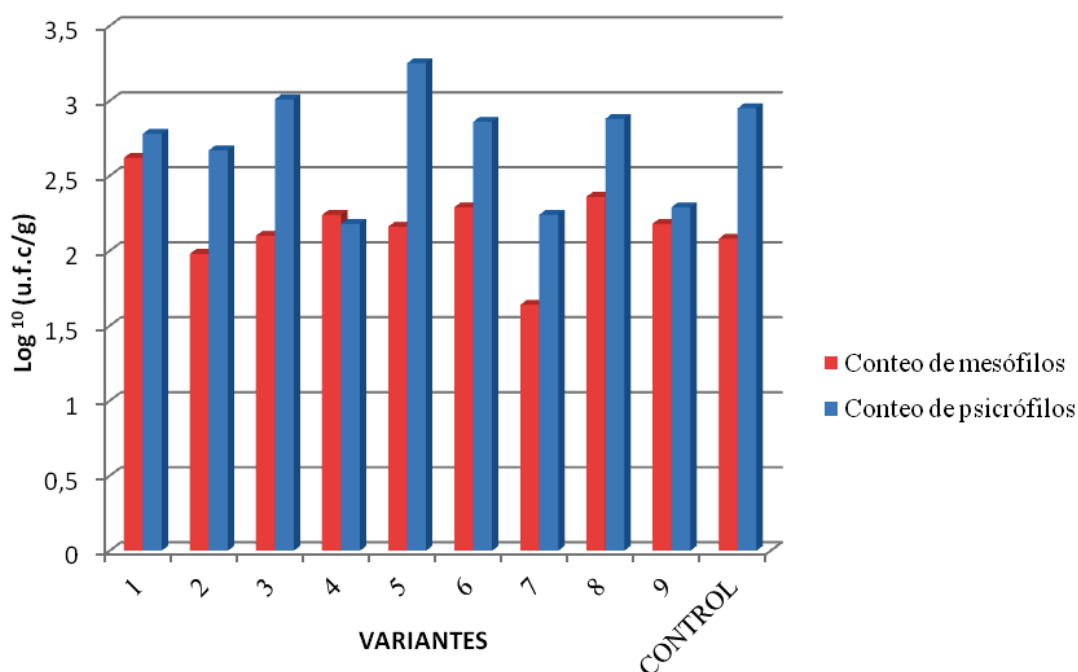


Figura 1. Calidad microbiológica inicial de las pastas cárnicas (log UFC/g).



La toma de muestras fue llevada a cabo inmediatamente después del proceso de elaboración, obteniéndose conteos de microorganismos mesófilos y psicrófilos bajos, manteniendo los niveles adecuados para este tipo de producto (menor a $1,0 \times 10^6$ UFC/g) según la norma NTE INEN 1338:2012 (INEN, 2012). En el caso de las enterobacterias los conteos dieron resultados con valores inferiores a los límites de detección, lo que estuvo en correspondencia con el tratamiento térmico recibido.

Del análisis de regresión, se pudo observar que los modelos que resultaron significativos ($\alpha = 5\%$) fueron lineales para el parámetro dureza instrumental y cuadráticos para la elasticidad, textura sensorial, sabor y jugosidad.

El resto de los modelos estudiados para las variables de respuesta, cohesividad y atributos sensoriales (aspecto y color) fueron no significativos (Tabla 6), por lo que no fue posible encontrar para estas variables un modelo matemático que explicara su comportamiento a

partir de los niveles estudiados de harina de quinua y grasa. Esto confirmó que dichos parámetros no se vieron afectados con las variaciones realizadas en los factores estudiados.

Los modelos matemáticos de predicción de los parámetros de calidad de las salchichas a partir de las variables contenido de harina de quinua (X_1) y grasa (X_2), cuyos ajustes resultaron significativos, se observan en la Tabla 7.

Como puede apreciarse en la Ec. 1, el contenido de harina de quinua (X_1) y de grasa (X_2), fueron directamente proporcionales a la dureza. Al aumentar la harina de quinua o la grasa se produjo un incremento en la dureza (Figura 2), observándose una influencia más marcada con la harina de quinua.

Los valores de la dureza oscilaron entre 4,18 kg y 10,03 kg (Tabla 8), al comparar las formulaciones con distintos contenidos de grasa (8, 10 y 12 %).

Tabla 6. Significancia de los modelos de predicción de las variables de respuesta analizadas.

Variable	Modelo	F	R ²	Significancia
Dureza	Lineal	38,45	0,8849	*
	Cuadrático	2,88	0,9370	ns
Elasticidad	Lineal	27,01	0,8438	ns
	Cuadrático	7,63	0,9154	*
Aspecto	Lineal	1,18	0,1904	ns
	Cuadrático	0,39	0,3734	ns
Textura	Lineal	9,38	0,6522	ns
	Cuadrático	11,24	0,9181	*
Sabor	Lineal	6,61	0,5694	ns
	Cuadrático	7,31	0,8969	*
Color	Lineal	0,39	0,0729	ns
	Cuadrático	0,87	0,2617	ns
Jugosidad	Lineal	14,8	0,7475	ns
	Cuadrático	9,75	0,9511	*

*: Diferencias significativas entre tratamientos al 95%; ns: diferencias no significativas

Tabla 7: Modelos de predicción de los parámetros de calidad de las salchichas

Ecuación	N°
Dureza = $6,69 + 2,39 X_1 + 0,90 X_2$	Ec. 1
Elasticidad = $7,76 + 0,84 X_1 + 0,44 X_2 + 0,34 X_1 X_2$	Ec. 2
Textura = $5,50 - 0,52 X_1 + 0,09 X_2 - 0,04 X_1 X_2 - 0,38 X_1^2 - 0,14 X_2^2$	Ec. 3
Sabor = $5,63 - 0,19 X_1 - 0,023 X_2 + 0,11 X_1 X_2 + 0,17 X_1^2 - 0,092 X_2^2$	Ec. 4
Jugosidad = $2,44 - 0,88 X_1 - 0,16 X_2 - 0,33 X_1 X_2 - 0,18 X_1^2 + 0,56 X_2^2$	Ec. 5

X_1 : contenido de Harina de quinua; X_2 : contenido de grasa

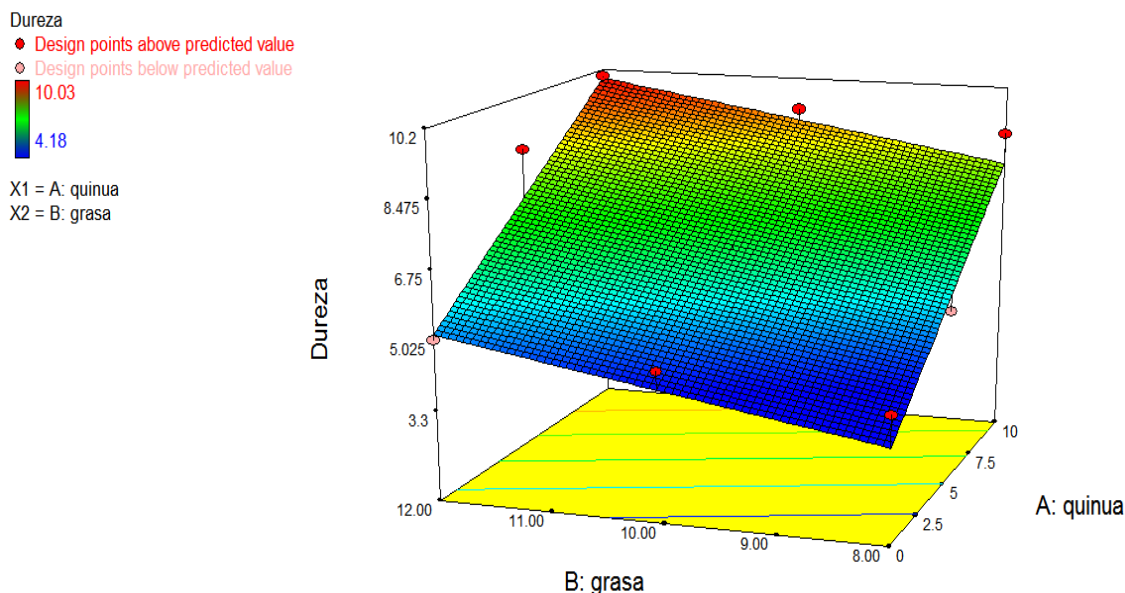


Figura 2. Superficie de respuesta para la dureza instrumental (kg) de las salchichas en función del contenido (%) de harina de quinua y grasa de la formulación.

Tabla 8. Parámetros texturales de las salchichas elaboradas bajo las diferentes formulación

Variante	Quinua (%)	Grasa (%)	Dureza (kg)	Elasticidad (mm)	Cohesividad (adimensional)
1	0	8	4,63 (0,47)	7,00 (0,76)	0,29 (0,01)
2	5	8	5,37 (0,43)	6,90 (0,33)	0,27 (0,01)
3	10	8	7,98 (0,45)	8,05 (0,60)	0,30 (0,01)
4	0	10	4,74 (0,60)	7,03 (0,62)	0,28 (0,02)
5	5	10	6,05 (1,56)	7,80 (0,29)	0,30 (0,02)
6	10	10	9,36 (1,11)	8,63 (0,38)	0,29 (0,01)
7	0	12	5,07 (0,96)	6,80 (1,16)	0,32 (0,26)
8	5	12	8,09 (1,52)	8,60 (1,20)	0,32 (0,02)
9	10	12	9,95 (1,90)	9,21 (0,83)	0,30 (0,08)
Control			6,60 (0,82)	7,00 (0,67)	0,25 (0,02)

() Desviación Estándar; n= 4

Dentro de las formulaciones estudiadas, los valores de dureza superiores se encontraron en las salchichas con 10 % de harina de quinua, lo que se debió a las propiedades funcionales que posee esta harina, las cuales ayudaron a retener el agua añadida y a mantener la estabilidad de la emulsión. Con respecto a las formulaciones que contenían harina de quinua, para un mismo porcentaje de grasa, al aumentar su concentración, se produjo un incremento de la dureza. Las formulaciones que presentaron valores de dureza por encima de 9 kg, correspondieron a concentraciones de harina de quinua de 10 % y de grasa entre 10 y 12 % (formulaciones 6 y 9 respectivamente). Se observó que los menores valores de dureza los presentaron las fórmulas en las formulaciones 1

(4,18 kg), 4 (4,74 kg) y 7 (5,07 kg); este comportamiento pudo deberse a la cantidad de agua adicionada, carencia de harina de quinua, el tipo de carragenato empleado y el porcentaje de sal utilizado en las formulaciones (2 %), ya que, por su composición y la fuerza de gel reportada por el proveedor, 750 g·cm⁻², al parecer se trabajó con una mezcla de carragenato kappa, el cual se ve afectado por la concentración de cloruro sódico (Pedersen, 1977; Pérez-Mateos et al., 2002). Estos resultados no coincidieron totalmente con lo reportado en la literatura ya que, según el tipo de carragenato (kappa, iota o lambda), se puede aumentar o disminuir la dureza de las salchichas con bajo contenido en grasa. Matulis et al. (1995) investigaron los efectos de la adición de



carragenato (0,2 a 0,4 %) a las salchichas de bajo contenido en grasa (12 a 18 %) y diferentes contenidos de cloruro sódico (1,3 a 2,0 %), encontrando que el carragenato tuvo poco efecto sobre la dureza en función del incremento de la sal. El carragenato aumentó la dureza al emplear concentraciones de sal por debajo del 1,7 % y redujo la jugosidad al emplear concentraciones de grasa por encima del 15 %. Foegeding y Ramsey (1986) hallaron que las características de textura de las salchichas de poca grasa (10 %) y alta humedad, elaboradas con iota-carragenato, no resultaron diferentes a las salchichas control con poca grasa y alta humedad, pero en ambas formulaciones se utilizó 2,35 % de sal.

Algunas de las formulaciones resultaron fuera del rango de las restricciones impuestas (5,5 a 8 kg de dureza). Estos valores, a pesar de estar fuera de las restricciones prefijadas, fueron muy similares a los encontrados por Martín et al. (1992) en productos similares elaborados con carne de cerdo y oca.

En la literatura no se encontraron trabajos que estudiaran la incorporación de la harina de quinua en salchichas reducidas en grasa. Ha sido utilizada como extensor en productos cárnicos (Maldonado, 2010) y en productos emulsionados tipo salchicha y mortadela, sustituyendo a la harina de trigo (Salinas, 2010).

Los valores obtenidos son similares a los encontrados en productos emulsionados elaborados con carne de cerdo y proteínas aisladas de soya y carragenato (M. A. Guerra, 1998), los cuales reportaron valores de dureza de 9,26 kg y 8,3 kg respectivamente.

Los valores elasticidad para las formulaciones elaboradas, oscilaron desde 6,8 mm en la variante 7 hasta 9,21 mm en la variante 9 (Tabla 8), resultando ser significativa esta variable de respuesta dentro de este estudio (Figura 3).

La cohesividad de las formulaciones correspondió con la de productos análogos elaborados con carne de diferentes especies, sin haberse podido observar diferencias significativas entre las formulaciones (Barbut y Mittal, 1989).

Los jueces evaluaron como “Buena” la textura de casi la totalidad de las formulaciones excepto la variante 6 (que contenía un 10 % de harina de quinua y un 10 % de grasa) que la evaluaron como regular, lo que pudo atribuirse a que las variaciones de dureza detectadas respecto a su patrón mental no fueron importantes como para devaluar el atributo (Figura 4).

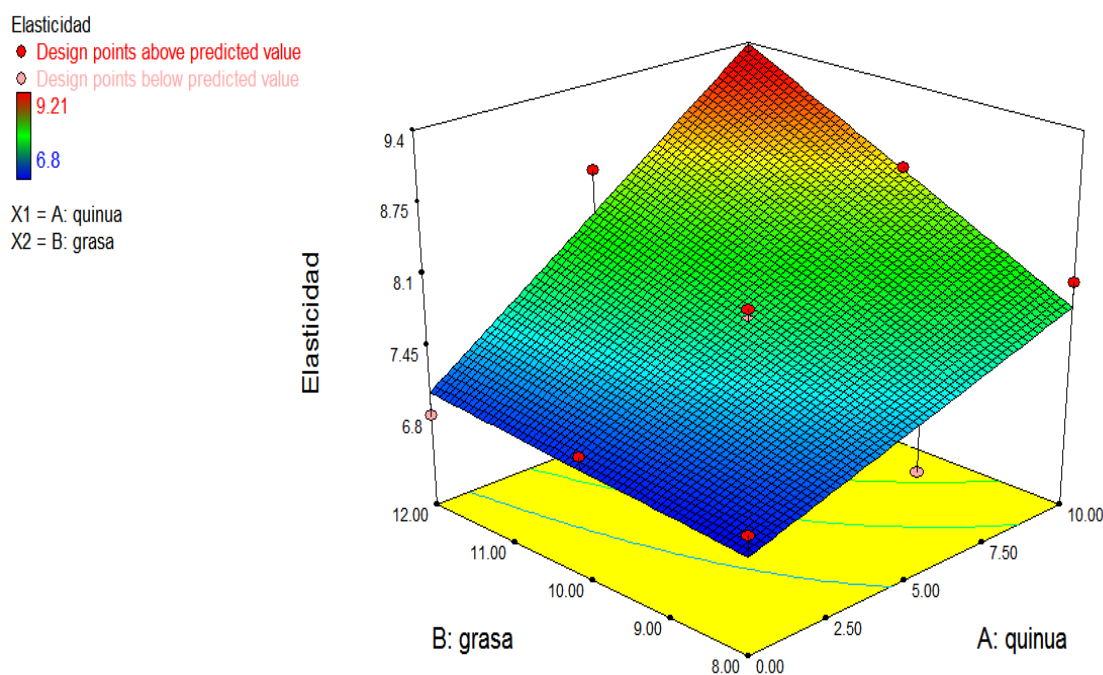


Figura 3. Superficie de respuesta para la elasticidad instrumental (mm) de las salchichas en función del contenido (%) de harina de quinua y grasa de la formulación

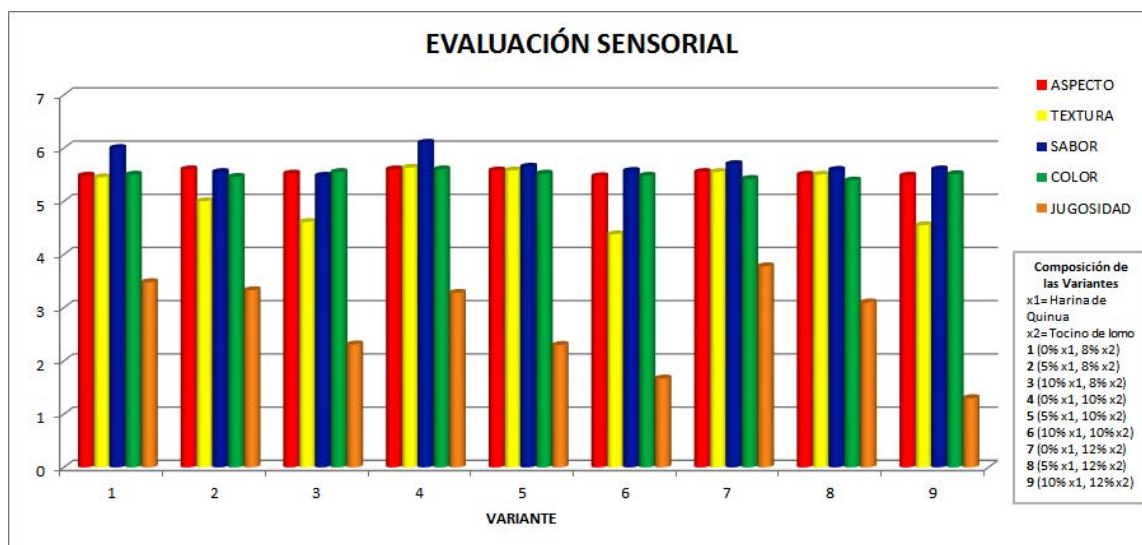


Figura 4. Resultados de la evaluación sensorial de las salchichas elaboradas con harina de quinua y carragenato

Los productos resultaron muy similares en su sabor, al igual que en el aspecto y color, recibiendo calificaciones entre 5 y 6, ("Bueno" a "Muy Bueno"), lo que significó que estos atributos no se afectaron con la relación harina de quinua-grasa estudiada.

El modelo (Ec. 4) predice que a medida que aumentan la proporción de harina de quinua y grasa en el producto, disminuye la puntuación. No obstante los jueces evaluaron favorablemente todas las formulaciones, lo que indica que los niveles de inclusión de harina de quinua utilizados en este

trabajo resultan aceptables en cuanto al sabor, demostrando así que la harina de quinua utilizada tuvo un proceso de saponificación adecuado.

En cuanto a la jugosidad, el modelo obtenido (ecuación V), que relaciona la jugosidad con las variables independientes, muestra la influencia que tiene la harina de quinua (X_1) y la grasa (X_2) sobre este parámetro, a medida que la concentración de éstas aumentan, disminuye significativamente la jugosidad (Figura 5), los jueces perciben salchichas más secas (Figura 4), observándose una influencia más marcada con la harina de quinua.

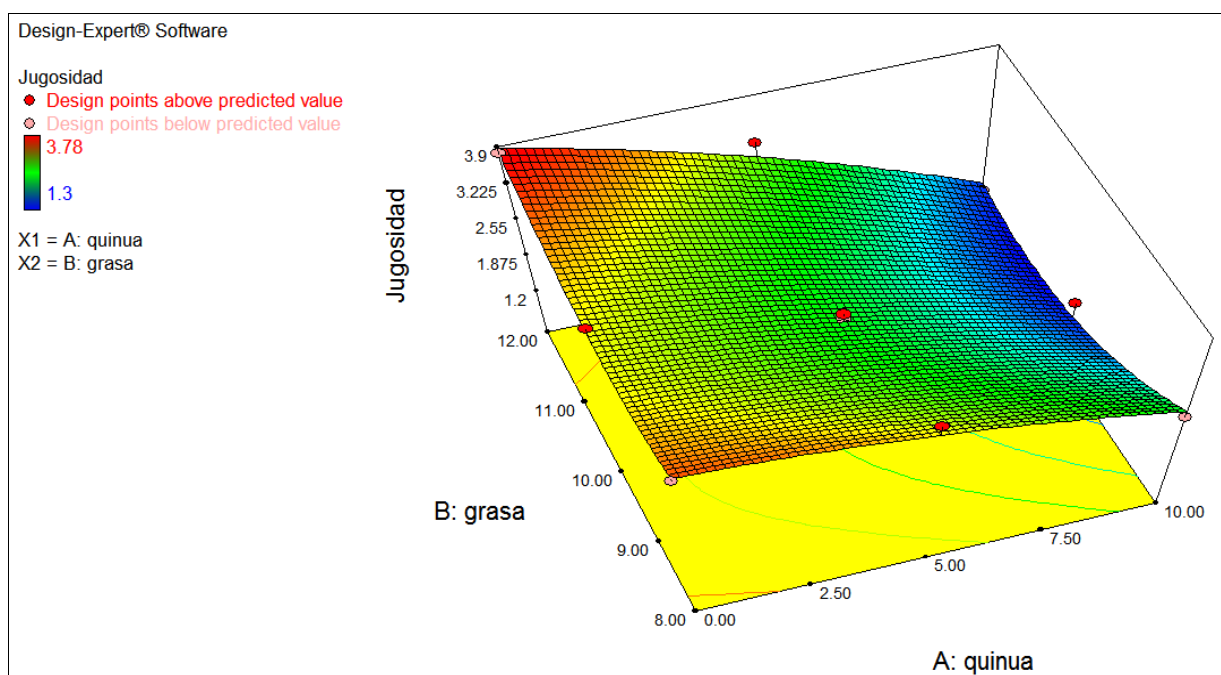


Figura 5. Superficie de respuesta para la jugosidad (1: extremadamente seca; 7: extremadamente jugosa) de las salchichas en función del contenido (%) de harina de quinua y grasa de la formulación.



Las puntuaciones oscilaron de 1 a 4, correspondiente a “Extremadamente seca” y “Óptima”. Los valores más bajos corresponden a las formulaciones 3 (2,31), 6 (1,67) y 9 (1,30) que contienen los mayores porcentajes de harina de quinua (10 %), se encuentran fuera del rango prefijado para las restricciones impuestas en el diseño (formulaciones 3 y 4), lo que indica que el 10 % de harina de quinua afecta sensiblemente a esta característica organoléptica de las salchichas. Esto puede ser explicado debido a que a medida que aumentó el contenido de quinua y grasa disminuyó el porcentaje de agua en la formulación. Además la quinua tiene una alta capacidad de retención de agua lo que incidió en la obtención de salchichas menos jugosas. Estos resultados fueron similares a los reportados por Verdesoto (2005) y contradictorios a los obtenidos por Salinas (2010). En este último estudio, tras reemplazar la harina de trigo por un 4 % de harina de quinua en productos cárnicos emulsionados, los jueces reportaron un incremento de la firmeza a medida que aumentó la concentración de quinua, pero siendo igualmente jugosos.

3.1 Caracterización del envase

El material de la tripa está compuesto por poliamida 6, el peso base y espesor fue de $46,23 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ y $44,90 \mu\text{m}$ respectivamente. La fuerza de tensión y la elongación fueron de $70,67 \text{ N} \cdot \text{mm}^{-1}$ y $49,45 \%$ y

resistieron adecuadamente la presión de embutido de la salchicha. La permeabilidad al vapor de agua de la tripa fue de $13,15 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$, encontrándose dentro de los valores reportados en la literatura para tripas impermeables (Theller, 1998).

En la Tabla 9 se reporta el resultado obtenido de la medición del espesor del material complejo de ambas caras de la bolsa y sus respectivas capas, así como la identificación de los polímeros que la componen. En dicha tabla se muestra también la permeabilidad al vapor de agua de las dos películas complejas PET/PEBD correspondientes a la cara superior e inferior de la bolsa.

En los resultados de resistencia al sellado térmico de los diferentes cierres de la bolsa se encontró que ninguno de ellos se despegó o partió al aplicárseles tensión. En los cinco ensayos realizados a cada uno de estos cierres, la probeta se elongó más de 25 mm hasta registrarse una fuerza de tracción de 16 N, partiéndose la película por una zona fuera del área de sellado, lo que indicó la alta resistencia al sellado de estos cierres.

3.2 Selección de la mejor variante

En la Figura 6 se presenta la superficie de respuesta óptima que cumple con las restricciones impuestas en la Tabla 2.

Tabla 9. Características del material de envase en ambas caras de la bolsa

Material	Grosor (μm)	Capa externa (PET)	Capa interna (PEBD)	Permeabilidad vapor de agua ¹ ($\text{g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$)
Cara superior	89,0 (0,8)	22,8 (0,4)	66,2 (0,6)	1,89 (0,06)
Cara inferior	88,8 (0,8)	22,4 (0,5)	66,4 (0,5)	2,01 (0,07)

¹: Permeabilidad medida a 23 °C y 85 % HR; PET: Polietileno tereftalato (Poliéster); PEBD: Polietileno de baja densidad; () Desviación típica; n= 3

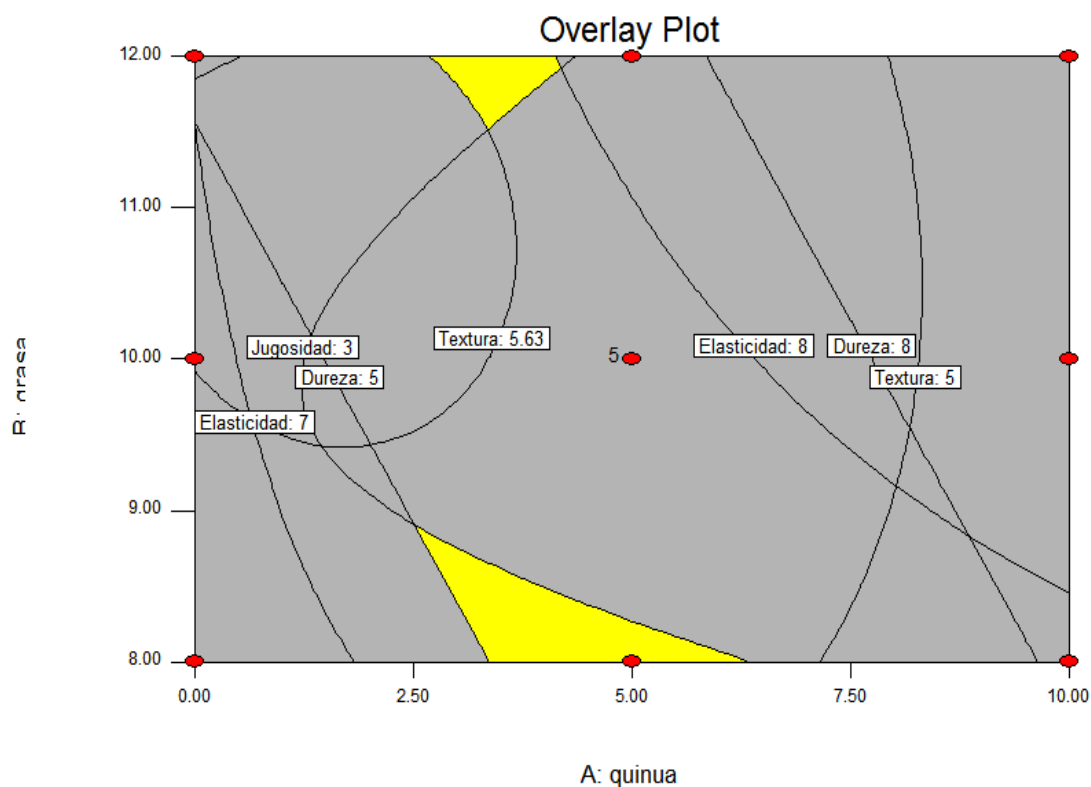


Figura 6. Superficie de respuesta óptima de salchichas en función del contenido (%) de harina de quinua y grasa de la formulación

Tal como puede apreciarse, en concentraciones de 10 % de grasa no hubo ninguna variante que cumpliera con los criterios preestablecidos, por lo que se seleccionó como mejor variante la correspondiente a un 5 % de harina de quinua y un 8 % de grasa ya que cumplía con estas restricciones, teniendo un bajo contenido de grasa.

3.3 Vida útil de las salchichas seleccionadas

Los productos recién elaborados presentaron una composición química acorde con los índices que se prescriben para el mismo (Tabla 10) y se consideraron aptos para realizar las pruebas de vida útil.

Se observó una disminución del pH (Figura 7), más marcado en las muestras no tratadas térmicamente, mientras que en las que se repasteurizaron luego del empacado fue menor.

Tabla 10. Composición, nitritos pH y a_w al inicio del almacenamiento en refrigeración

Formulación	Humedad (%)	Grasa (%)	Proteína (%)	NaNO ₃ (ppm)	pH	a_w
5% HQ + 8%G	66,98	11,53	12,00	94,67	6,1	0,977

G:grasa; HQ:harina de quinua

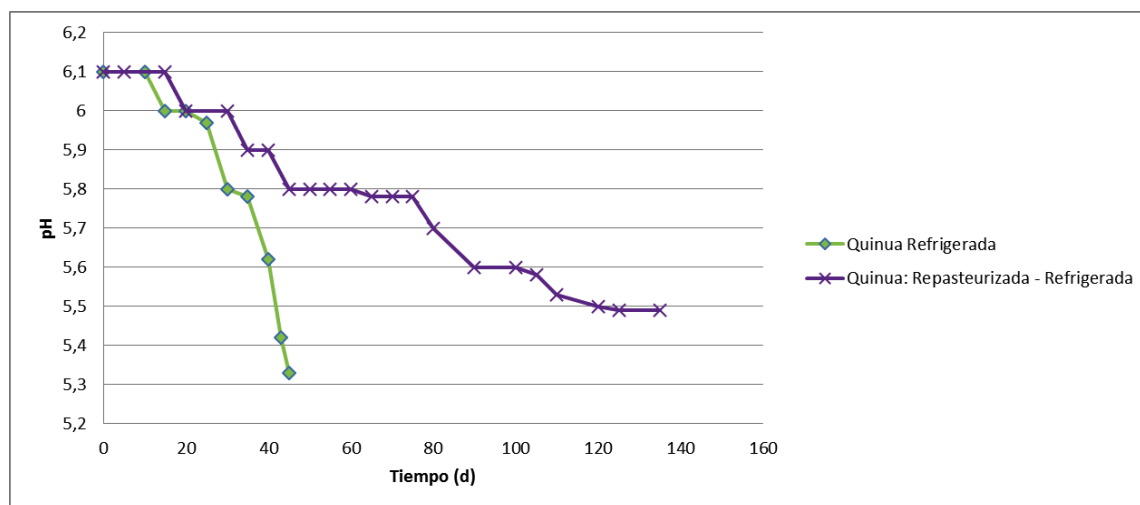


Figura 7. Evolución en el tiempo del pH de las salchichas de receta optimizada sometidas a diferentes tratamientos de conservación tras su elaboración.

El empackado en bolsas previno a los productos cárnicos de la recontaminación microbiana, que incide en la disminución del pH. A esto contribuyó el tener un nuevo obstáculo, que es la repasteurización, que tiene un efecto reductor sobre la flora contaminante que pudo haber quedado luego del empackado al vacío.

La disminución de pH estuvo originada por el incremento en los conteos microbianos. Además de la disminución del pH, se vieron afectadas las características organolépticas del producto (olor,

sabor y aroma), influyendo directamente en la aceptación del mismo y, por lo tanto, en la vida útil, ya que la evaluación sensorial fue el criterio de rechazo elegido, por ser éste el parámetro utilizado por los consumidores.

La calidad microbiológica de los productos al inicio del almacenamiento fue excelente cumpliendo con las exigencias de la Norma de Contaminantes Microbiológicos del Sistema de Normas Sanitarias de Alimentos (DISAIC, 2015) (Tabla 11).

Tabla 11. Calidad microbiológica de los embutidos tipo salchicha al inicio del almacenamiento en refrigeración.

Muestras (t=0)	Aerobios mesófilos totales (log UFC · g ⁻¹)	Psicrófilos (log UFC · g ⁻¹)
Con harina de quinua	1,95±0,003	2,90±0,004

El conteo de aerobios mesófilos totales fue del orden de 10², siendo el de psicrófilos algo más elevado. Es fácil entender esta diferencia entre los conteos pues se trata de un producto refrigerado y el conteo de enterobacterias fue indetectable (datos no mostrados), significando que los productos recibieron un adecuado tratamiento térmico, siendo elaborados con buenas prácticas de higiene, por lo que fueron aptos para los estudios de durabilidad.

Los conteos microbianos aumentaron significativamente con el tiempo, algo más marcadamente en las formulaciones que sólo recibieron el tratamiento de empaque al vacío, mientras que en las repasteurizadas el crecimiento de microorganismos alcanzó la fase de aceleración en un intervalo mayor de tiempo, lo que podría deberse al efecto combinado de los dos obstáculos que deben vencer los microorganismos presentes para desarrollarse. Se observó, además, que en las

formulaciones que sólo fueron empackadas al vacío, en menos de 40 días los conteos de aerobios mesófilos se encontraron en 4 unidades logarítmicas, valor límite que se permite para este tipo de productos (DISAIC, 2015; ICMSF, 1986). En el caso de las formulaciones que se sometieron a los dos tratamientos (empaque al vacío y repasteurización), después de 130 días, los valores de aerobios mesófilos llegaron al límite establecido. La tendencia de los conteos de bacterias productoras de ácido durante el almacenamiento, fue aumentar entre los 35 y 40 días hasta superar las cuatro unidades logarítmicas, dato que coincide con la fecha del rechazo de las formulaciones empackadas al vacío. Estos microorganismos tienen un lento crecimiento, por lo cual son capaces de desarrollarse en productos envasados al vacío donde otras bacterias de más rápido crecimiento en

condiciones aerobias no se desarrollan debido al ambiente microaerófilico.

Al utilizar la repasteurización, el incremento en el tiempo de las bacterias productoras de ácido se hizo más lento y se extendió la durabilidad de los productos, sin embargo, entre los 125 y 130 días los recuentos de estos microorganismos indicadores estuvieron por encima de cuatro unidades logarítmicas. Shumaker y Feirtag (1997) observaron que el deterioro de los productos empacados al vacío ocurría por la presencia de bacterias productoras de ácido que, a pesar de eliminarse durante el tratamiento térmico, se vuelven a reproducir por una recontaminación posterior a la cocción.

Con relación al resto de los indicadores microbianos determinados, en el caso de las levaduras y microorganismos psicrófilos, los conteos durante todo el estudio de durabilidad se mantuvieron en una unidad logarítmica, mientras que no se encontró presencia de coliformes fecales, hongos y *Staphylococcus coagulasa* positivos, lo que avala la calidad sanitaria de los productos. Además, en ninguno de los productos se encontró presencia de *Salmonella* (datos no mostrados).

La seguridad y calidad en el estudio estuvieron también relacionadas con las operaciones de

envasado, cuyo éxito está en función de las propiedades del material de envase, la eficiencia en conseguir el vacío deseado y la integridad del envase así como de las condiciones y del control de la temperatura. En las salchichas únicamente envasadas a vacío, se presentó un exudado lechoso y los jueces calificaron el sabor de las mismas como ácidas a partir de los 47 días de almacenamiento.

Los parámetros texturales que se muestran en la Tabla 12, permiten observar que no se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) para la fórmula con 5 % de harina de quinua y 8 % de grasa entre el inicio y final del estudio de vida útil de cada formulación.

En la Tabla 13 se muestran los resultados del análisis de riesgos de Weibull para la determinación de la vida útil de las salchichas envasadas al vacío y refrigeradas y las que recibieron después de envasadas al vacío un tratamiento de repasteurización y posteriormente se refrigeraron. Se exponen los percentiles del 5% por ser el riesgo aceptado en el trabajo.

Tabla 12. Resultados de los parámetros del perfil de textura de las formulaciones seleccionadas refrigeradas y repasteurizadas-refrigeradas al inicio y final del período de vida útil.

Parámetro	Tratamiento	Inicio	Final	Diferencias
Dureza (kg)	C/R	8,09	7,98	ns
	RP/R	8,93	8,89	ns
Elasticidad (mm)	C/R	8,53	8,48	ns
	RP/R	8,98	8,95	ns
Cohesividad (adimensional)	C/R	0,32	0,33	ns
	RP/R	0,32	0,31	ns

C/R: Cocinada-refrigerada; RP/R: Repasteurizada-refrigerada; ns: diferencias no significativas al 95 % de confianza

Tabla 13. Vida útil, calculada a partir del análisis de riesgos de Weibull, de las salchichas sometidas a diferentes tratamientos térmicos, y almacenadas en refrigeración entre 2 y 4 °C.

Tratamiento	Promedio (días)	Límite inferior ¹	Límite superior ¹
		(días)	
C/R	36,28 (0,017)	34,81(0,006)	37,81(0,017)
RP/R	129,36 (0,015)	127,70 (0,006)	131,03 (0,002)

C/R: Cocinada-refrigerada; RP/R: Repasteurizada-refrigerada; ¹: promedio +/- intervalo confianza 95%

Seleccionando de estos valores el límite inferior, para una mayor confianza, se puede decir que la vida útil de las salchichas envasadas al vacío y refrigeradas fue de 34 días para la formulación con 5 % de harina de quinua, 8 % de grasa y 1 % de carragenato. Para las salchichas envasadas al vacío y repasteurizadas fue de 127 días para la misma formulación.

Resultados similares fueron reportados por Guerra et al., (2001), que informaron de una vida útil en salchichas envasadas al vacío y refrigeradas, de 27 días para la de bajo contenido de grasa y de 26 días para las de alto contenido de grasa y, para las salchichas envasadas al vacío y repasteurizadas, 129 días para las de bajo contenido de grasa y de 122 días para las de alto contenido de grasa, lo que



no se encuentra muy alejado de lo obtenido en este trabajo.

4. CONCLUSIONES

Se obtuvieron productos embutidos tipo salchicha de bajo contenido de grasa y buena calidad sensorial y microbiológica, empleando concentraciones entre el 5 y el 10 % de harina de quinua, entre el 8 % y el 12 % de grasa y un 1% de carragenato.

La mejor variante seleccionada para los criterios establecidos dentro de este trabajo correspondió a salchichas elaboradas con un 5 % de harina de quinua y un 8 % de grasa. Se observó que un nivel del 10 % de harina de quinua produjo un aumento de la dureza y afectó la jugosidad de las salchichas aunque el resto de los atributos sensoriales como el sabor, color y aspecto no se vieron afectados por esta concentración de harina.

La vida útil de la salchicha con 5 % de harina de quinua y 8 % de grasa, empacada en bolsas al vacío y almacenada en refrigeración, utilizando como criterio de evaluación el análisis sensorial, se prolongó hasta 34 días, que pasó a ser de hasta 127 días en el caso de aplicar un tratamiento adicional de repasteurización al producto una vez envasado al vacío lo cual da la posibilidad de tener esta opción para uso industrial, de acuerdo a la durabilidad que se desee en el producto.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos de manera especial al Proyecto Prometeo de la Secretaría de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación de la República del Ecuador por la posibilidad brindada para la divulgación de los resultados de este trabajo y al IIIA (Cuba) por el apoyo para el desarrollo de la investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ahmed, P. O., Miller, M. F., Lyon, C. E., Vaughters, H. M., y Reagan, J. O. (1990). Physical and sensory characteristics of low fat fresh pork sausages processed with various levels of added water. *Journal of Food Science*, 55(3), 625-628.

AOAC. (1995). AOAC Official Method 967.25. *Salmonella* in Foods. Preparation of Culture Media and Reagents. (pp. 3). : AOAC INTERNATIONAL.

AOAC. (2005). AOAC Official Method 2001.11. Protein (Crude) in Animal Feed, Forage (Plant Tissue), Grain, and Oilseeds. Block Digestion Method Using Copper Catalyst and Steam Distillation into Boric Acid (pp. 3): AOAC INTERNATIONAL.

Arthey, D. Y., y Ashurst, P. R. (1997). *Procesado de frutas*. Zaragoza (España): Ed. Acribia.

Asp, N. G., Johansson, C. G., Hallmer, H., y Siljeström, M. (1983). Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble fibre. *Journal of Agronomy and Food Chemistry*, 31(3), 476-482.

ASTM. (2009). ASTM F88 / F88M-09. Standard Test Method for Seal Strength of Flexible Barrier Materials. West Conshohocken, PA (USA): ASTM International.

ASTM. (2013). ASTM E252-06. Standard Test Method for Thickness of Foil, Thin Sheet, and Film by Mass Measurement. West Conshohocken, PA (USA): ASTM International.

Barbut, S., y Mittal, G. S. (1989). Influence of K⁺ and Ca⁺⁺ on the rheological and gelation properties of reduced fat pork sausages containing carrageenans. *LWT - Food Science and Technology*, 22(3), 124-132.

Bourne, M. C. (1978). Texture profile analysis. *Food Technology*, 32(7), 62-66, 72.

Cardelli, C., y Labuza, T. P. (2001). Application of Weibull Hazard analysis to the determination of the shelf life of roasted and ground coffee. *LWT - Food Science and Technology*, 34(5), 273-278.

Carrillo, L., Dalmau, J., Martínez, J. R., Solà, R., y Pérez, F. (2011). Grasas de la dieta y salud cardiovascular. *Anales de Pediatría*, 74(3), 192.e191-192.e116.

Cerezal, P., Carrasco, A., Pinto, K., Romero, N., y Arcos, R. (2007). Suplemento alimenticio de alto contenido protéico para niños de 2-5 años. Desarrollo de la formulación y aceptabilidad. *Interciencia* 32(12), 857-864.

Cheftel, J. C., Cheftel, H., y Besançon, P. (1992). *Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos* (4ª Edición ed.). Zaragoza (España): Ed. Acribia S.A.

- DISAIC. (1999). NC ISO 536. Norma Cubana. Papel y cartón. Determinación del gramaje (pp. 8). <http://www.nonline.cubaindustria.cu/>.
- DISAIC. (2002). NC ISO 712. Norma Cubana. Cereales y productos de cereales. Determinación del contenido de humedad (pp. 11). <http://www.nonline.cubaindustria.cu/>.
- DISAIC. (2003). NC ISO 6888-1. Norma Cubana. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Método horizontal para la enumeración de *Staphylococcus* coagulasa positiva (*Staphylococcus aureus* y otras especies). Parte 1: Técnica utilizando el medio agar Baird Parker. (pp. 17). <http://www.nonline.cubaindustria.cu/>.
- DISAIC. (2004a). NC 357. Norma Cubana. Carne y productos cárnicos. Determinación del contenido de nitrito (pp. 6). <http://www.nonline.cubaindustria.cu/>.
- DISAIC. (2004b). NC ISO 1841-1. Norma Cubana. Carne y productos cárnicos. Determinación del contenido de cloruro. Parte I: Método de Volhard (pp. 8). <http://www.nonline.cubaindustria.cu/>.
- DISAIC. (2004c). NC ISO 2917. Norma Cubana. Carne y productos cárnicos. Medición del pH. Método de referencia (pp. 9). <http://www.nonline.cubaindustria.cu/>.
- DISAIC. (2005). NC 275. Norma Cubana. Carne y productos cárnicos. Determinación del contenido de humedad. Método rápido (pp. 6). <http://www.nonline.cubaindustria.cu/>.
- DISAIC. (2006). NC ISO 936. Norma Cubana. Carne y productos cárnicos. Determinación de ceniza total (pp. 9). <http://www.nonline.cubaindustria.cu/>.
- DISAIC. (2008). NC ISO 6579. Norma Cubana. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Método horizontal para la detección de *Salmonella* spp. Método de referencia (pp. 36). <http://www.nonline.cubaindustria.cu/>.
- DISAIC. (2009). NC ISO 20483. Norma Cubana. Cereales y legumbres – Determinación del contenido de nitrógeno y cálculo del contenido de la proteína bruta. Método de Kjeldahl (pp. 18). <http://www.nonline.cubaindustria.cu/>.
- DISAIC. (2010). NC ISO 2528. Norma Cubana. Materiales en lámina. Determinación de la velocidad de transmisión al vapor de agua. Método gravimétrico (de la cápsula) (pp. 18). <http://www.nonline.cubaindustria.cu/>.
- DISAIC. (2012). NC ISO 527-3. Norma Cubana. Plásticos. Determinación de las propiedades en tracción. Parte 3: Condiciones de ensayo para películas y hojas (pp. 7). <http://www.nonline.cubaindustria.cu/>.
- DISAIC. (2014). NC 1004. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Guía general para la enumeración de levaduras y mohos. Técnica a 25 °C (pp. 11). <http://www.nonline.cubaindustria.cu/>.
- DISAIC. (2015). NC 585. Norma Cubana. Contaminantes microbiológicos en alimentos. Requisitos sanitarios (Obligatoria) (pp. 27). <http://www.nonline.cubaindustria.cu/>.
- Egbert, W. R., Huffman, D. L., Chen, C. M., y Dylewski, D. P. (1991). Development of low-fat ground beef patties. *Journal Food Technology*, 45(6), 64-73.
- FAO. (2011). *La Quinoa: cultivo milenario para contribuir a la seguridad alimentaria mundial*.
- Foegeding, E. A., y Ramsey, S. R. (1986). Effect of gums on low fat meat batters. *Journal of Food Science*, 51(1), 33-36.
- Guerra, M., Hernández, M., Pérez, D., Hernández, U., De Hombre, R., Frometa, Z., et al. (2011). Efecto de la harina de plátano sobre la calidad de un embutido tipo mortadella. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 21(3), 22-26.
- Guerra, M., Martín, M., Herrera, H., Jiménez-Colmenero, F., Casals, C., Núñez de Villavicencio, M., et al. (2001). Estudio de la estabilidad de salchichas con bajo contenido de grasa envasada al vacío. *La Industria Cárnica Latinoamericana*, 124, 33-39.
- Guerra, M. A. (1998). *Empleo de carragenato y aislado de soya en productos cárnicos emulsificados de bajo contenido de grasa*. MSc Thesis, Universidad de la Habana (Cuba), La Habana (Cuba).
- ICC. (1992). Standard Method No. 126/1. Method for using the Brabender Amylograph.



- ICMSF. (1986). *Ecología Microbiana de los Alimentos*. Zaragoza (España).
- INEN. (2012). Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1338. Carne y productos cárnicos. Productos cárnicos crudos, productos cárnicos curados-madurados y productos cárnicos precocidos-cocidos. Requisitos (pp. 11).
- Jacobsen, S. E., y Sherwood, S. (2002). *Cultivo de granos andinos en Ecuador. Informe sobre los rubros quinua, chocho y amaranto*. Quito (Ecuador): Ed. Abya-Yala.
- Jiménez-Colmenero, F. (1995). Productos Cárnicos con bajo contenido en grasa. *Eurocarne* 35, 53-62.
- Jiménez-Colmenero, F. (1996). Technologies for developing low-fat meat products. *Trends in Food Science and Technology*, 7, 41-48.
- Jiménez-Colmenero, F. (2004). Estrategias tecnológicas en el desarrollo de derivados cárnicos funcionales. En: F. Jiménez Colmenero, F. J. Sánchez-Muniz & B. Olmedilla (Eds.), *La Carne y Productos Cárnicos como Alimentos Funcionales* (pp. 75-90). Ciudad: Editec.
- Lin, M. J. Y., Humbert, E. S., y Sosulsky, F. W. (1974). Certain functional properties of sunflower meal products. *Journal of Food Science*, 39(2), 368-370. doi: 10.1111/j.1365-2621.1974.tb02896.x
- MAGAP. (2013). *Ecuador innovando para la Soberanía alimentaria: producción, consumo y comercio de la Quinua*. Paper presented at the IV Congreso Mundial de la Quinua, Ibará (Ecuador).
- Maldonado, P. (2010). Embutidos fortificados con proteína vegetal a base de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Enfoque UTE*, 1, 36-45.
- Matulis, R. J., McKeith, F. K., Sutherland, J. W., y Brewer, S. (1995). Sensory characteristics of frankfurters as affected by salt, fat, soy protein and carrageenan. *Journal of Food Science*, 60, 48-54.
- Pedersen, J. K. (1977). La carragenina en productos cárnicos gelificados. *Afinidad*, 34, 637.
- Pérez-Mateos, M., Solas, T., y Montero, P. (2002). Carrageenan and alginate effect on properties combined pressure and temperature in fish mince gels. *Food Hydrocolloids*, 16(3), 225-233.
- Romo, S., Rosero, R., Forero, C., y Cerón, E. (2006). Potencial nutricional de harinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) variedad Piartal en los Andes Colombianos. Primera Parte. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*, 4(1), 112-125.
- Salinas, M. E. (2010). *Efecto de la sustitución de harina de trigo por harina de quinua (Chenopodium quinoa) para la formulación y elaboración de salchichas tipo Vienesas con características funcionales*. BSc. Thesis, Universidad Técnica de Ambato, Ambato (Ecuador).
- Selgas, M. D., Cáceres, E., y García, M. L. (2005). Long-chain Soluble Dietary Fibre as Functional Ingredient in Cooked Meat Sausages. *Food Science and Technology*, 11, 41-47.
- Theller, H. W. (1998). Heat seability of flexible web materials in hot bar sealing applications. *Journal of Plastic Film and Sheeting*, 5, 66-93.
- Totosaus, A. (2007). *Productos cárnicos emulsionados bajos en grasa y sodio*. Paper presented at the Coloquio Internacional en Ciencia y Tecnología de la Carne y Productos Cárnicos.
- Villacrés, E., Peralta, E., Egas, L., y Mazón, N. (2011). Potencial Agroindustrial de la Quinua, Boletín Técnico No. 146. Quito (Ecuador): Departamento de Nutrición y Calidad de los Alimentos. Estación Experimental Santa Catalina, INIAP.

USO DE ULTRASONIDOS EN LA EXTRACCIÓN DE PLANTAS LABIADAS COMBINANDO ETANOL Y CO₂ SUPERCRÍTICO

ULTRASONIC-ASSISTED EXTRACTION IN LABIATE PLANTS COMBINING ETHANOL AND SUPERCRITICAL CO₂

*S. Barrazueta¹, G. Mendoza¹, T. Fornari²

¹Facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH)
Riobamba, Ecuador

²Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL)
Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC),
Universidad Autónoma de Madrid (UAM)
Madrid, España

Recibido: 14/03/2015

Aceptado: 06/06/2015

RESUMEN

Varias plantas de la familia de las labiadas, tales como: romero (*Rosmarinus officinalis* L.), mejorana (*Origanum majorana* L.) y albahaca (*Ocimum basilicum* L.) contienen importantes compuestos fenólicos, sustancias muy apreciadas por su reconocida actividad antioxidante.

El objetivo de la investigación fue combinar una etapa previa de sonicación utilizando etanol como cosolvente, con la posterior extracción supercrítica (US-SFE), para favorecer la extracción de estos compuestos y comparar los resultados obtenidos con la extracción supercrítica (SFE) con CO₂ puro y con cosolvente. En la SFE de hojas de romero el rendimiento de extracción aumentó significativamente de 4,52 % a 7,99 % al utilizar etanol como cosolvente y a 15,03 % con la US-SFE. La etapa previa de sonicación logró que el rendimiento final de extracto obtenido se triplicara en comparación con la SFE. En la extracción de hojas de mejorana se obtuvieron resultados positivos con la US-SFE ya que el incremento del rendimiento de extracción fue del 46 % referente al rendimiento obtenido en la SFE con etanol cosolvente. En las hojas de albahaca la US-SFE no produjo ventaja alguna frente a las otras técnicas en lo que se refiere a rendimiento o contenido de polifenoles totales.

La inclusión de una etapa previa de ultrasonidos aumentó el rendimiento de extracción, redujo el tiempo, el flujo de CO₂ y el consumo de etanol del proceso, y se obtuvo un extracto similar en cuanto a contenido de ácido carnósico.

Palabras clave: romero, mejorana, albahaca, cosolvente, compuestos fenólicos.

ABSTRACT

Several plants of the labiate family, such as rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), marjoram (*Origanum majorana* L.) and basil (*Ocimum basilicum* L.), contain important phenolic compounds, substances prized for its recognized antioxidant activity. The aim of the research was to combine a sonication step prior using ethanol as co-solvent, with subsequent supercritical extraction (US-SFE), to facilitate the extraction of these compounds and comparing the results obtained with supercritical extraction (SFE) with pure CO₂ and co-solvent.

In the SFE rosemary leaves the extraction yield increased significantly from 4,52 % to 7,99 % by using ethanol as co-solvent and 15,03 % with US-SFE. Prior sonication step got the final yield of extract obtained tripled compared to the SFE. In the extraction of marjoram leaves positive results were obtained with the US-SFE, since the increase of extraction yield was 46 % related to the yield obtained in the SFE with ethanol co-solvent. Basil leaves in the US-SFE produced no advantage over the other techniques in terms of performance or total polyphenol content. The inclusion of a previous stage of ultrasonication increased the extraction yield, reduced time, the flow of CO₂ and ethanol consumption process, and a similar extract was obtained in terms of carnolic acid content.

Keywords: rosemary, marjoram, basil, co-solvent, phenolic compounds.

* Autor de correspondencia: Sandra Barrazueta. E-Mail: sbarrazueta@epoch.edu.ec



1. INTRODUCCIÓN

Los compuestos fenólicos son un amplio grupo de sustancias con diferentes estructuras químicas y actividad, son constituyentes importantes de las plantas y que a su vez les otorga múltiples efectos benéficos. Están presentes generalmente en forma de glucósidos en los extractos de las frutas, hierbas, vegetales, cereales y otros materiales; lo que ha permitido su utilización por la industria alimentaria no solo por las características organolépticas que le confieren a los alimentos, sino porque retardan la oxidación de los lípidos y mejoran la calidad nutricional de los alimentos (Muñoz y Ramos, 2007).

Los compuestos antioxidantes juegan un papel muy importante en los alimentos. La oxidación lipídica es una de las principales causas de deterioro químico, lo que resulta en la rancidez y/o el deterioro de la calidad nutricional, color, sabor y seguridad de los alimentos, los iniciadores para esta oxidación incluyen rayos UV, luz, calor, enzimas, variedades de radicales libres, microorganismos y metales/ metalproteínas (Albu et al., 2004). Además de su papel como estabilizadores de alimentos, pueden proteger las células contra los efectos de los radicales libres y por tanto, tienen un efecto destacado en la prevención de problemas cardíacos, cáncer y otras enfermedades (Suhaj, 2006).

Recientes estudios han indicado el mecanismo fundamental del potencial preventivo de algunos compuestos fenólicos, los cuales juegan un rol importante por su actividad antioxidante (Kähkönen et al., 1999), anti-inflamatorio, aumento del potencial inmune, efecto antihormonal, modificación de enzimas metabolizadoras de drogas, influencia sobre el ciclo celular y diferenciación celular, inducción de apoptosis, supresión y proliferación, angiogénesis, los cuales cumplen roles en la iniciación y modificación del estado secundario del desarrollo neoplásico (Tsuda et al., 2004).

El desarrollo de nuevas técnicas de separación para las industrias química y alimentaria ha recibido mucha atención últimamente debido a las nuevas restricciones del Reglamento para el medio ambiente, salud pública y la necesidad de minimizar los costos de energía (López-Sebastián et al., 1998).

La extracción asistida con ultrasonidos (*Ultrasound Assisted Extraction*, UAE) se considera una prometedora tecnología para la industria de procesamiento de alimentos (Azuola y Vargas, 2007). Son señales de alta intensidad que se utilizan para modificar un proceso o un producto. Con una frecuencia más baja y mayor potencia producen cambios físicos y químicos en el medio a través de la generación y subsiguiente colapso de burbujas de

cavitación, las cuales aparecen, crecen y colapsan dentro del líquido.

La ventaja de utilizar ultrasonido en la extracción de plantas ya se ha aplicado a un sin número de compuestos de interés, tanto en la farmacología y la industria alimentaria. La mejora observada en la extracción de compuestos orgánicos por ultrasonido se atribuye a una intensificación de la transferencia de masa debido al fenómeno de cavitación producido en el disolvente por el paso de una onda ultrasónica o sonora y al efecto mecánico que produce el ultrasonido permitiendo una mayor penetración de disolvente en el cuerpo de la planta (Albu, et al., 2004).

Entre las tecnologías de procesos innovadores, la extracción con fluidos supercríticos (SFE) es, en efecto, la aplicación más ampliamente estudiada. En la práctica, la SFE se lleva a cabo generalmente utilizando dióxido de carbono (CO₂) por varias razones prácticas: tiene una presión y una temperatura crítica moderadamente baja (74 bar y 32 °C), no es tóxico, no es inflamable, está disponible en alta pureza a un coste relativamente bajo, es reconocido como GRAS (*Generally Recognized as Safe*), y se elimina fácilmente a partir del extracto (Fornari et al., 2012).

Uno de los inconvenientes que presenta el CO₂ supercrítico es su baja polaridad lo que dificulta la extracción de solutos polares. Para la extracción de esta clase de compuestos se utiliza un cosolvente que es un disolvente orgánico que se añade al fluido supercrítico en pequeñas cantidades (hasta un 10 % v/v). Algunos cosolventes utilizados son: dimetil sulfóxido, hexanol, 2-propanol, 2-metoxietanol, agua, ácido fórmico, etc. (Fornari, et al., 2012).

Los extractos de hierbas, especias, y otros materiales vegetales ricos en compuestos fenólicos son de creciente interés en la industria alimentaria porque retardan la degradación oxidativa de los lípidos y, por consiguiente, mejoran la calidad y el valor nutricional de los alimentos. Las hierbas se utilizan en muchos dominios, incluyendo la medicina, la nutrición, aromatizantes, bebidas, teñido, repelentes, perfumes o cosméticos (Wojdyło et al., 2007).

El romero (*Rosmarinus officinalis* L.) es una planta típica de la región y cocina Mediterránea, que se ha estudiado como un producto natural con diversas actividades biológicas tales como: anti-inflamatoria, anti-tumoral, quimiopreventiva, hepatoprotectora, contra la diabetes, antioxidante, anti-proliferativa, antiviral, antimicrobiana, anticonceptiva y antidepresiva, entre otros (Vázquez et al., 2013; Vicente et al., 2012).

La albahaca (*Ocimum basilicum* L.) es una planta cuyas hojas que se utilizan muy comúnmente como condimento en la comida. También es muy valiosa debido a sus propiedades farmacéuticas. Muchos

estudios científicos han demostrado que el extracto de albahaca es un fuerte eliminador de radicales y puede considerarse como una buena fuente de antioxidantes naturales (Abas et al., 2006; Javanmardi et al., 2003; Lee y Scagel, 2009, 2010). El aceite esencial obtenido a partir de las hojas de mejorana (*Origanum majorana* L.) posee propiedades antibacterianas, antimicóticas y antioxidantes, por lo que la investigación de la composición y sabor de esta materia prima es de gran interés (Vági et al., 2005). Su aceite esencial y extractos alcohólicos se aplican en productos farmacéuticos, perfumes y los cosméticos (Al-Bandak et al., 2011; Novak et al., 2000).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Material Vegetal

Las hojas secas de las plantas labiadas utilizadas en el presente estudio son: romero (*Rosmarinus officinalis* L.), albahaca (*Ocimum basilicum* L.) y mejorana (*Origanum majorana* L.), proceden de Herboristería Murciana (España). La molienda y tamizado de las hierbas se realizó hasta lograr un diámetro final de partícula entre 200 y 500 μm en un molino de cuchillas Grindomix modelo GM200 (Retsch GmbH, Alemania).

2.2 Productos químicos y reactivos

El dióxido de carbono CO_2 (N38) utilizado tuvo una pureza de 99,5 % en relación (w/w) y fue suministrado por Carburos Metálicos (Madrid, España). El disolvente polar utilizado fue etanol de grado espectroscópico.

Los patrones de ácido carnósico (≥ 96 %) y carnosol ($\geq 98\%$) fueron adquiridos de Bioquímica de Alexis (Madrid, España). El ácido rosmarínico (97 %) provino de Sigma-Aldrich (Madrid, España). El ácido fosfórico de grado HPLC fue provisto por Panreac (Madrid, España). El acetonitrilo grado HPLC fue provisto por el Laboratorio de Exploración (Gliwice, Polonia).

2.3 Métodos de extracción

2.3.1 Extracción Asistida con Ultrasonidos (UAE)

Las extracciones se realizaron en un baño de ultrasonidos modelo 3000513 (J.P. Selecta, Barcelona, España). 5 g de las hojas secas molidas de cada una de las plantas labiadas, se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 250 cm^3 y se añadieron 100 cm^3 de etanol. El matraz y su contenido se sumergieron en un baño de ultrasonidos y se realizó

el sonicado durante 5, 15 y 30 min. El rango de temperatura se mantuvo a ≤ 30 °C y presión de 1 bar.

Los extractos obtenidos fueron filtrados al vacío y recuperados en viales de vidrio. El disolvente se eliminó mediante un rotavapor y se procedió a su secado mediante una corriente de N_2 . Todos los experimentos se realizaron por duplicado. Las muestras secas se almacenaron a 4 °C en la oscuridad hasta su análisis

2.3.2 Extracción con fluidos supercríticos (SFE)

Las extracciones con fluidos supercríticos se llevaron a cabo en una planta a escala piloto modelo SF2000 (Thar Technology, Pittsburgh, PA, USA). La planta tiene una celda de extracción con una capacidad de 2 L y dos separadores diferentes (S1 y S2), de 0,5 L de capacidad, con controladores independientes de presión y temperatura. La celda de extracción tiene una relación altura / diámetro de 5,5 (42 cm de altura, 76 mm de diámetro interior). La planta de extracción también incluye un sistema de recirculación en el cual el CO_2 se condensa y se bombea hasta la presión de extracción deseada.

Las extracciones se realizaron a una temperatura de 40 °C y a una presión de entre 150 y 300 bar. El caudal de inyección de CO_2 utilizado fue de 30 $\text{g} \cdot \text{min}^{-1}$ y 60 $\text{g} \cdot \text{min}^{-1}$, dependiendo del tipo de experimento. El tiempo de extracción para los experimentos fue alrededor de 3 horas. Para facilitar la recogida del extracto de las celdas se utilizaron pequeñas cantidades de etanol.

Los extractos obtenidos fueron filtrados al vacío y recuperados en viales de vidrio, el disolvente se eliminó utilizando un rotavapor y se secó en una corriente de N_2 . Las muestras secas se almacenaron a 4 °C en la oscuridad hasta su análisis.

La SFE se llevó a cabo en las tres plantas labiadas del presente estudio utilizando CO_2 puro y combinado con etanol como cosolvente en una proporción alrededor del 5 % para mejorar la extracción de los compuestos fenólicos.

2.3.3 Extracción con fluidos supercríticos combinada con etapa previa de ultrasonidos (US-SFE)

Las hojas secas de romero, albahaca y mejorana, previamente molidas, se mezclaron en un vaso de precipitación con etanol en una relación 2:3 (peso de materia prima: volumen de disolvente). Esta mezcla fue sometida a sonicado durante 30 min, cuidando que la temperatura del baño se mantuviese a menos de 30 °C. El pastiche obtenido se sometió a SFE utilizando únicamente CO_2 puro sin adición de cosolvente.



2.4 Análisis por HPLC

La cuantificación de ácido carnósico, carnosol y ácido rosmarínico de los extractos se analizó empleando un HPLC equipado con un MICROSORB-MV-100, columna C18 (Varian) de 250 mm x 4,6 mm y 5 μ m de tamaño de partícula. La fase móvil consistió en acetonitrilo (disolvente A) y 0,1 % de ácido fosfórico en agua (disolvente B) aplicando el siguiente gradiente: 0-8 min, 23 % de disolvente A y 8-25 min, 77 % de disolvente A. Esta última composición se mantuvo durante 15 minutos y las condiciones iniciales fueron alcanzadas en 5 min.

El tiempo total de análisis fue de 45 minutos. La velocidad de flujo fue constante a 0,7 mL·min⁻¹. El volumen de inyección fue de 20 μ L y la detección se llevó a cabo mediante el uso de una red de diodos de detección del sistema de Varian, la misma que almacenó la señal a una longitud de onda de 230, 280 y 350 nm.

2.5 Estimación del contenido de Polifenoles Totales

Se utilizó el método colorimétrico Folin-Ciocalteu. En tubos de ensayo se mezclan en el siguiente orden: 3 mL de H₂O de Tipo 1 (Milli-Q), 50 μ L muestra o patrón y 250 μ L de reactivo de Folin-Ciocalteu. Se incubaron a temperatura ambiente durante 3 min. Luego se añadieron a la mezcla 0,75 mL de carbonato de sodio al 20 % y 0,95 mL de H₂O Tipo 1. Las muestras se agitaron en el vórtex y se dejaron en reposo durante dos horas en la oscuridad. La absorbancia del color azul resultante fue medida en un espectrofotómetro a 760 nm. La cuantificación se hizo con respecto a las curvas de concentración de ácido gálico, siendo los resultados finales expresados como mg de ácido gálico / mg muestra (Wojdyło, et al., 2007).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis comparativo de la eficiencia de la extracción de compuestos fenólicos en las plantas en estudio.

Las Tablas 1 y 2, corresponden a la extracción utilizando CO₂ puro (Tabla 1) y CO₂ con etanol como cosolvente (Tabla 2).

Tabla 1. Eficiencia de la extracción utilizando CO₂ puro

Planta	Tiempo (min)	R (%)	% peso AC	% peso CAR	Total AC extraído (mg·g ⁻¹ planta)
Romero	360	4,52	10,89	-	4,92
Romero*	420	2,83	16,90	3,12	5,26
Albahaca	300	1,96	-	-	-
Mejorana	300	2,06	-	-	-

AC: ácido carnósico; R: rendimiento g extracto·g⁻¹ materia prima); *SFE con fraccionamiento del extracto en dos separadores en línea

Tabla 2. SFE con etanol como cosolvente a 40 °C, 15 MPa y 60 g·min⁻¹ CO₂

Planta	Tiempo (min)	R (%)	% peso AC	% peso CAR	Total AC extraído (mg·g ⁻¹ planta)
Romero	210	7,99	30,64	4,77	12,38
Albahaca	210	3,23	-	-	-
Mejorana	190	3,16	-	-	-

AC: ácido carnósico; CAR: carnosol; R: rendimiento (g extracto·g⁻¹ materia prima)

La extracción SFE combinada con etanol como cosolvente (en bajas concentraciones, < 5 %) mejoró los rendimientos de extracción para todas las plantas estudiadas en comparación con la SFE utilizando CO₂ puro. El rendimiento de extracción de las hojas de romero aumentó significativamente de 4,52 % a 7,99 %; el incremento fue de alrededor de un 77 %. El contenido de ácido carnósico mejoró ya que los valores pasaron de 4,92 a 12,38 mg·g⁻¹ de extracto, prácticamente duplicando el total de ácido carnósico presente en el extracto final.

La albahaca y la mejorana también presentaron mejoría en cuanto al porcentaje de extracción ya que sus valores aumentaron de 1,96 a 3,23 y de 2,06 a 3,16 mg·g⁻¹ respectivamente. Esto supuso un incremento del 65 % en el caso de la albahaca y un 53 % en el de la mejorana.

Tomando en cuenta las consideraciones anteriormente citadas se verificó que el uso de etanol como cosolvente mejoró considerablemente la recuperación de antioxidantes como el ácido carnósico presente en el romero. Teniendo en cuenta los resultados de eficiencia obtenidos en la

SFE al utilizar etanol como cosolvente, se investigó el efecto de combinar una etapa previa de sonicación con la posterior extracción por SFE

(US-SFE). Los resultados se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Extracción combinada US-SFE a 40 °C y 15 MPa

Planta	CO ₂ (g·min ⁻¹)	Tiempo (min)	% etanol en el CO ₂	R (%).	% peso AC	% peso CAR	mg AC / mL etanol
Romero	60	210	3,81	11,48	23,69	2,86	18,12
Romero	30	180	4,44	15,03	23,15	2,70	23,19
Albahaca	60	180	4,44	2,47	-	-	-
Mejorana	60	180	3,33	4,61	-	-	-

AC: ácido carnósico; CAR: carnosol; R: rendimiento (g extracto·g⁻¹ materia prima)

En cuanto a los rendimientos obtenidos se obtuvieron las siguientes consideraciones: las hojas de romero con la extracción combinada (US-SFE) presentó valores similares a la SFE con cosolvente. La mejorana presentó un aumento del 45 % ya que sus valores pasaron de 3,16 mg·g⁻¹ con la SFE con cosolvente a 4,61 mg·g⁻¹ con la (US-SFE). La albahaca no presento mejoría en los resultados obtenidos.

Particularmente, en el caso del romero, se observó una disminución en el % en peso de antioxidantes (ácido carnósico y carnosol) pero un aumento de la cantidad de ácido carnósico recuperado por mL de etanol empleado, cuando se comparó la US-SFE con la SFE con etanol. Asimismo, la reducción del flujo de CO₂ de 60 g·min⁻¹ a 30 g·min⁻¹, permitió obtener un extracto de romero con un rendimiento considerablemente mayor (15,03 % vs 7,99 %) y mejor eficacia en términos de la cantidad de etanol empleada (23,19 mg vs 12,38 mg de ácido carnósico por mL de etanol empleado).

A pesar de la etapa previa de ultrasonificación que se aplicó a las plantas en estudio, la extracción de ácido rosmarínico no se logró en ninguna de las hierbas. Esto podría llevarse a cabo, empleando mayores cantidades de cosolvente polar y, posiblemente, mayores densidades de CO₂ para recuperar dicho compuesto mediante SFE.

La Tabla 4 muestra los resultados obtenidos con la extracción asistida con ultrasonidos (UAE). En el caso del romero, el rendimiento global de extracción a los 30 min, fue de 25,6 %, resultando el mejor valor refiriéndose a las técnicas de extracción utilizadas en el presente estudio. En cuanto al % en peso de ácido carnósico (AC) se observó que disminuyó a mayor tiempo de extracción (20,44 % en 5 min y 12,94% en 30 min). En cuanto a la eficiencia en consumo de etanol, el mejor resultado correspondió a la extracción UAE durante 30 min (1,66 mg AC / mL etanol).

Tabla 4. UAE con etanol a temperatura ≤ 30°C y presión de 100 kPa

Planta	Tiempo (min)	R (%)	% peso AC	% peso CAR	% peso AR	mg AC / mL etanol	mg AR / mL etanol
Romero	5	9	20,44	2,20	1,25	0,92	0,06
	15	12,8	18,52	1,76	1,36	1,19	0,09
	30	25,6	12,94	0,59	2,09	1,66	0,27
Albahaca	5	1,50	-	-	1,66	-	0,01
	15	1,84	-	-	1,74	-	0,02
	30	1,66	-	-	1,51	-	0,01
Mejorana	5	2,19	-	-	3,89	-	0,04
	15	7,12	-	-	2,13	-	0,08
	30	10,99	-	-	1,85	-	0,10

AC: ácido carnósico; CAR: carnosol; R: rendimiento (g extracto·g⁻¹ materia prima); AR: ácido rosmarínico

Los extractos de hojas de albahaca obtenidos por UAE presentaron valores de rendimiento de extracción considerablemente inferiores en comparación a las otras técnicas en estudio. El % en peso de ácido rosmarínico (AR) no se vio afectado al aumentar el tiempo, tal como se pudo observar en las otras dos plantas en estudio. Los resultados

obtenidos en los tres tiempos 5, 15 y 30 min se mantuvieron prácticamente constantes.

La extracción UAE de mejorana presentó el mayor valor en cuanto al rendimiento, con un total de 10,99 %. El rendimiento de extracción se incrementó al aumentar el tiempo de experimentación aunque el % en peso de AR disminuyó. La mayor cantidad de AR se extrajo en



30 min con una concentración de 1,85 % en peso, equivalente a $2 \text{ mg AR} \cdot \text{g}^{-1}$ planta.

Las Figuras 1 a 3 muestran los cromatogramas correspondientes al análisis por HPLC de las muestras obtenidas mediante la extracción con ultrasonidos (30 min) de cada una de las plantas estudiadas. Se indicó en las correspondientes figuras el pico correspondiente al ácido rosmarínico, antioxidante objetivo en el estudio. En el cromatograma correspondiente al extracto de romero se indicaron los picos del ácido carnósico y carnosol (antioxidantes reconocidos como los mayoritarios).

Asimismo, en los cromatogramas de albahaca y mejorana pudieron observarse otros picos importantes, muy posiblemente correspondientes a otros compuestos fenólicos que no fue posible identificar en este trabajo.

Por esto, se consideró utilizar la determinación del contenido de polifenoles totales como medida de la recuperación de antioxidantes fenólicos presentes en los extractos.

En la Tabla 5 se muestran los resultados obtenidos para el romero. El valor más alto en concentración

de polifenoles totales correspondió a la extracción realizada con fluidos supercríticos con etanol como cosolvente (aproximadamente un 5 % de etanol) con un valor del $0,25 \text{ mg de ácido gálico (AG)} \cdot \text{mg}^{-1}$ de muestra. Los datos obtenidos para la US-SFE fueron ligeramente menores. Asimismo, se observó una correlación entre el valor Folin resultante y el contenido de antioxidantes determinado para las distintas muestras.

Los valores Folin obtenidos para las hojas de albahaca fueron de la misma magnitud tanto en la extracción UAE, SFE con etanol cosolvente y US-SFE. En cambio, para la mejorana el valor más alto correspondió al extracto US-SFE con un total del $0,16 \text{ mg de AG} \cdot \text{mg}^{-1}$ muestra, como se puede observar en las Tablas 6 y 7.

Finalmente, los valores Folin de los extractos de romero fueron mayores que los de mejorana, y éstos, mayores que los de albahaca. Esto concuerda con el orden de actividad antioxidante (romero > mejorana > albahaca) determinada por Vázquez et al. (2013) utilizando extracción acelerada con disolventes (ASE) para estas variedades de plantas.

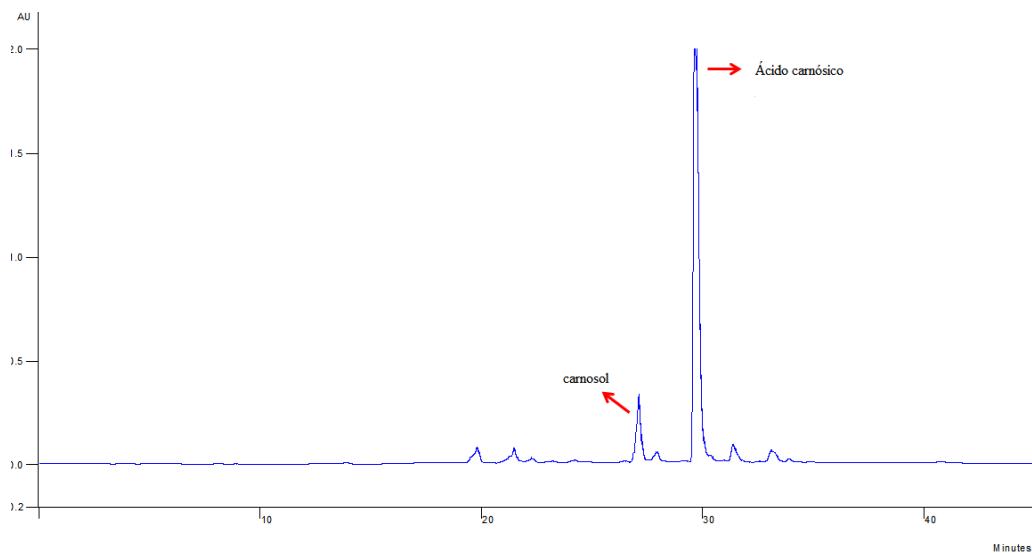


Figura 1. Cromatograma del extracto UAE de romero ($2,5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)

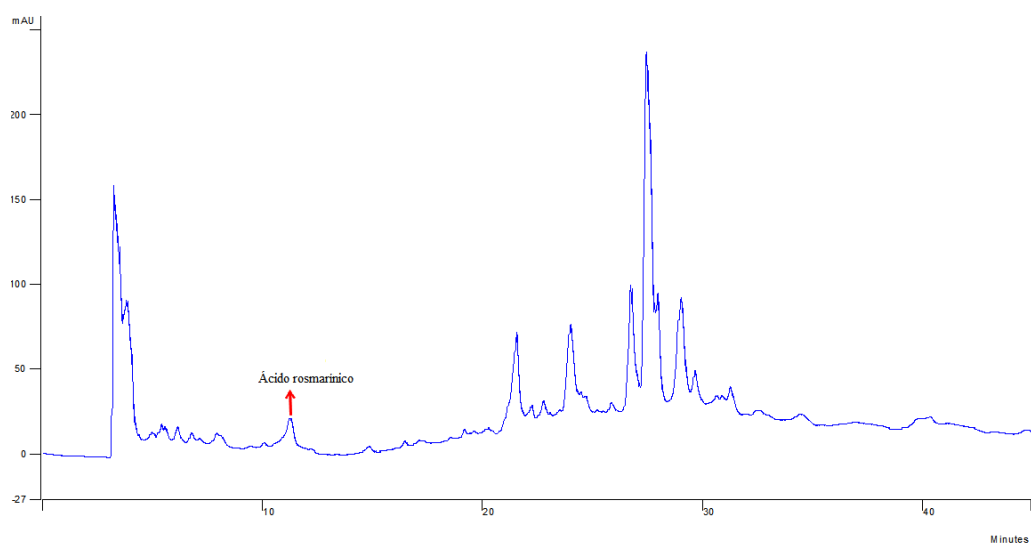


Figura 2. Cromatograma del extracto UAE de albahaca ($2,5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$).

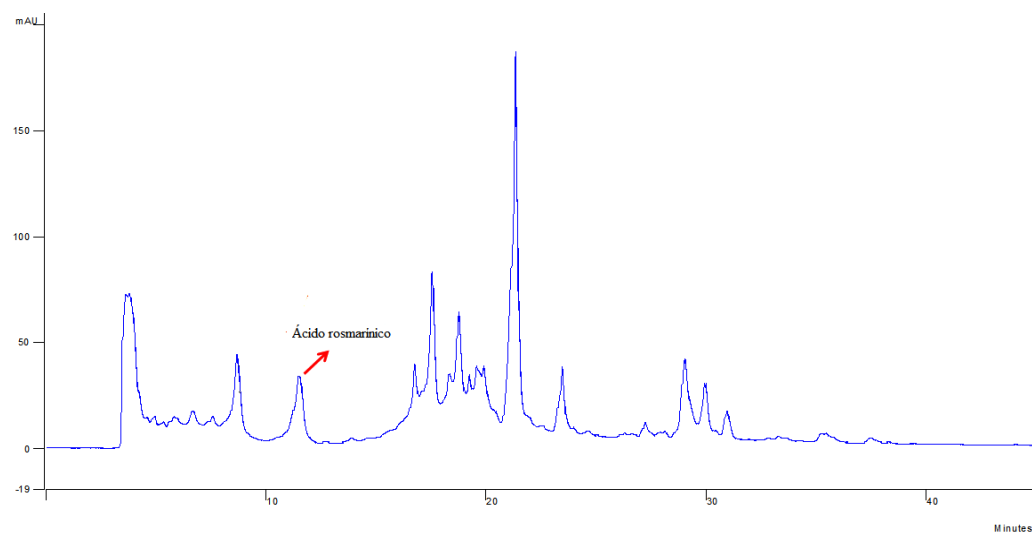


Figura 3. Cromatograma del extracto UAE de mejorana ($2,5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$).



Tabla 5. UAE con etanol a temperatura $\leq 30^{\circ}\text{C}$ y presión de 100 kPa

Planta	Tiempo (min)	R (%)	% peso AC	% peso CAR	% peso AR	mg AC / mL etanol	mg AR / mL etanol
Romero	5	9	20,44	2,20	1,25	0,92	0,06
	15	12,8	18,52	1,76	1,36	1,19	0,09
	30	25,6	12,94	0,59	2,09	1,66	0,27
Albahaca	5	1,50	-	-	1,66	-	0,01
	15	1,84	-	-	1,74	-	0,02
	30	1,66	-	-	1,51	-	0,01
Mejorana	5	2,19	-	-	3,89	-	0,04
	15	7,12	-	-	2,13	-	0,08
	30	10,99	-	-	1,85	-	0,10

AC: ácido carnósico; CAR: carnosol; AR: ácido rosmarínico

Tabla 6. Comparación de polifenoles totales de los extractos de hojas de romero obtenidos por SFE con etanol cosolvente y US-SFE.

Planta	Técnica	mg AG / mg muestra	% peso antioxidantes (AC + CAR + AR)
Romero	SFE con etanol cosolvente ($\approx 5\%$)	0,25	35,41
	US-SFE caudal CO_2 30 g/min	0,20	26,55
	US-SFE caudal CO_2 60 g/min	0,21	25,85

AC: ácido carnósico; CAR: carnosol; AR: ácido rosmarínico; AG: ácido gálico

Tabla 7. Comparación de polifenoles totales de los extractos de hojas de albahaca y mejorana obtenidos por SFE con etanol cosolvente y US-SFE

Planta	Técnica	Concentración mg de AG / mg muestra
Albahaca	UAE (30 min)	0,11
	SFE con etanol cosolvente ($\approx 5\%$)	0,12
	US-SFE caudal CO_2 60 $\text{g} \cdot \text{min}^{-1}$	0,11
Mejorana	UAE (30 min)	0,09
	SFE con etanol cosolvente ($\approx 5\%$)	0,13
	US-SFE caudal CO_2 60 $\text{g} \cdot \text{min}^{-1}$	0,16

AG: ácido gálico

4. CONCLUSIONES

La extracción supercrítica de hojas de romero combinada con una etapa previa de ultrasonidos (US-SFE) optimizó la cantidad de etanol empleada en el proceso, la concentración de antioxidantes en el extracto y el rendimiento de extracción debido a que los efectos físicos como turbulencia, aglomeración de partículas y la alteración de la célula que producen los ultrasonidos favoreció la liberación de ácido carnósico de la matriz vegetal, que luego fue más fácilmente extraído con CO₂ supercrítico.

En la extracción de hojas de mejorana se obtuvieron resultados positivos con la US-SFE ya que el incremento del rendimiento de extracción fue de 46 % referente al rendimiento obtenido en la SFE con etanol cosolvente. Además, los resultados del análisis de polifenoles totales indicaron que los extractos US-SFE fueron los que tuvieron mayor contenido de compuestos fenólicos, con un total de 0,16 mg ácido gálico·mg⁻¹ de extracto.

En el caso de la extracción de hojas de albahaca, la técnica US-SFE no produjo ventaja alguna en lo que se refiere a rendimiento o contenido de polifenoles totales. Por el contrario, la técnica US-SFE pareció producir una pequeña disminución del rendimiento de extracción respecto de la técnica SFE con cosolvente, siendo el contenido de polifenoles totales similar en todos los extractos analizados.

La extracción supercrítica (SFE) con CO₂ puro o utilizando etanol como cosolvente, y combinada con ultrasonidos, no fue capaz de extraer ácido rosmarínico de ninguna de las plantas labiadas estudiadas. Esto afectó negativamente a la calidad antioxidante de los extractos obtenidos, puesto que el ácido rosmarínico es reconocido como un potente antioxidante.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la financiación otorgada por el Ministerio de Ciencia e Innovación de España (proyecto INNSAMED IPT-300000-2010-34) y por la Comunidad Autónoma de Madrid (proyecto ALIBIRD-S2009/AGR-1469) y al Gobierno de la República del Ecuador por la beca otorgada a través de la SENESCYT en la convocatoria abierta de becas 2011 que permitió a la autora principal desarrollar los estudios de Maestría en la Universidad Autónoma de Madrid.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abas, F., Lajis, N. H., Israf, D. A., Khozirah, S., y Kalsom, Y. U. (2006). Antioxidant and nitric oxide inhibition activities of selected Malay traditional vegetables. *Food Chemistry*, 95(4), 566-573. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.01.034
- Al-Bandak, G., Dermesonloulou, E. K., Taoukis, P. S., y Oreopoulou, V. (2011). Antioxidant effect of *Majorana syriaca* extract in bulk corn oil and o/w emulsion after applying high hydrostatic pressure. *Food Chemistry*, 125(4), 1166-1170. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.10.022
- Albu, S., Joyce, E., Paniwnyk, L., Lorimer, J. P., y Mason, T. J. (2004). Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. *Ultrasonics Sonochemistry*, 11(3-4), 261-265. doi: 10.1016/j.ultsonch.2004.01.015
- Azuola, R., y Vargas, P. (2007). Extracción de sustancias asistida por ultrasonido (EUA). *Tecnología En Marcha*, 20, 30-40.
- Fornari, T., Ruiz-Rodriguez, A., Vicente, G., Vázquez, E., García-Risco, M. R., y Reglero, G. (2012). Kinetic study of the supercritical CO₂ extraction of different plants from *Lamiaceae* family. *Journal of Supercritical Fluids*, 64, 1-8. doi: 10.1016/j.supflu.2012.01.006
- Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E., y Vivanco, J. M. (2003). Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food Chemistry*, 83(4), 547-550. doi: 10.1016/S0308-8146(03)00151-1
- Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., et al. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10), 3954-3962. doi: 10.1021/jf990146l
- Lee, J., y Scagel, C. F. (2009). Chicoric acid found in basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. *Food Chemistry*, 115(2), 650-656.
- Lee, J., y Scagel, C. F. (2010). Chicoric acid levels in commercial basil (*Ocimum basilicum*) and *Echinacea purpurea* products. *Journal of Functional Foods*, 2(1), 77-84. doi: 10.1016/j.jff.2009.11.004



- López-Sebastián, S., Ramos, E., Ibáñez, E., Bueno, J. M., Ballester, L., Tabera, J., et al. (1998). Dearomatization of antioxidant rosemary extracts by treatment with supercritical carbon dioxide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(1), 13-19. doi: 10.1021/jf970565n
- Muñoz, A., y Ramos, F. (2007). Componentes fenólicos de la dieta y sus propiedades biomedicinales. *Horizonte Médico*, 7(1), 23-31.
- Novak, J., Bitsch, C., Langbehn, J., Pank, F., Skoula, M., Gotsiou, Y., et al. (2000). Ratios of cis- and trans-sabinene hydrate in *Origanum majorana* L. and *Origanum microphyllum* (Benth) Vogel. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28, 697-704. doi: 10.1016/S0305-1978(99)00098-8
- Suhaj, M. (2006). Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 531-537. doi: 10.1016/j.jfca.2004.11.005
- Tsuda, H., Ohshima, Y., Nomoto, H., Fujita, K., Matsuda, E., Iigo, M., et al. (2004). Cancer prevention by natural compounds. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 19(4), 245-263. doi: 10.2133/dmpk.19.245
- Vági, E., Simándi, B., Suhajda, Á., y Héthelyi, É. (2005). Essential oil composition and antimicrobial activity of *Origanum majorana* L. extracts obtained with ethyl alcohol and supercritical carbon dioxide. *Food Research International*, 38(1), 51-57. doi: 10.1016/j.foodres.2004.07.006
- Vázquez, E., García-Risco, M. R., Jaime, L., Reglero, G., y Fornari, T. (2013). Simultaneous extraction of rosemary and spinach leaves and its effect on the antioxidant activity of products. *Journal of Supercritical Fluids*, 82, 138-145. doi: 10.1016/j.supflu.2013.07.004
- Vicente, G., Molina, S., González-Vallinas, M., García-Risco, M. R., Fornari, T., Reglero, G., et al. (2012). Supercritical rosemary extracts, their antioxidant activity and effect on hepatic tumor progression. *Journal of Supercritical Fluids*, 79, 101-108. doi: 10.1016/j.supflu.2012.07.006
- Wojdyło, A., Oszmiański, J., y Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 105(3), 940-949. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.04.038

OPTIMIZACIÓN DEL SECADO OSMÓTICO DE UVILLA MEDIANTE EMPLEO DE UN EDULCORANTE NO CALÓRICO

GOLDEN BERRY OSMOTIC DRYING OPTIMIZATION BY MEANS OF A NON-CALORIC SWEETENER

M. Veloso, M. T. Pacheco, L. Garcés, W. Teneda*

Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos
Universidad Técnica de Ambato (UTA), Ambato, Ecuador

Artículo recibido: 05/01/15

Artículo aceptado: 31/05/15

RESUMEN

La investigación se enfocó en determinar el mejor tratamiento para obtener uvilla deshidratada (*Physalis peruviana* L.) empleando un edulcorante no calórico. Las características organolépticas finales de la uvilla deshidratada a diferentes temperaturas fueron analizadas por un panel semi-entrenado, siendo estas: color, olor, sabor característico y textura. La estimación de costo y la cinética de secado señaló como mejor tratamiento el empleo de 510 gramos de sacarosa + 1,98 g. sucralosa/ 1000 ml de agua con 4 h de concentración osmótica y secado a 60 °C; teniendo un rendimiento del 20,43 %. Las características del producto obtenido con el mejor tratamiento fueron: 15,6 % de humedad; pH 4; 17,33 °Brix y 0,29 % de acidez. Su composición proximal resultó: 6,85 % proteína; 0 % grasa; 5,85 % cenizas; 67,7 % carbohidratos, valor energético 298,20 Kcal/100 g, 12,07 % fibra y 11,46 mg/100 g de Vitamina C, con 2,42 % de sucralosa. El estudio de estabilidad microbiológica, determinado por cálculo en base al crecimiento de aerobios totales, dio a conocer un tiempo de vida útil de 85 días, siendo el costo de producción de 46,92 USD/kg, bajo las condiciones de esta experimentación.

Palabras clave: Humedad, propiedades sensoriales, sucralosa

ABSTRACT

The research focused on determining the best treatment for golden berry dehydrated (*Physalis peruviana* L.) using a non-caloric sweetener. The organoleptic characteristics of the final dried golden berry dried at different temperatures were analyzed by semi-trained panel, were: color, odor, characteristic flavor and texture. Estimated cost and drying kinetics signaled as better treatment the use of 510 g of sucrose + 1,98 g sucralose / 1000 ml of water, 4 h osmotic concentration and drying at 60 °C resulting in a 20,43 % yield.

The features of the product with the best treatment were: 15,6 % moisture; pH 4; 17,33 °Brix and 0,29 % acidity. Its proximate composition was: 6,85 % protein; 0 % fat; 5,85% ash; 67,7 % carbohydrates, 298.20 Kcal / 100 g energetic value; 12.07 % fiber and 11.46 mg / 100g Vitamin C, with 2,42 % sucralose. The study of microbiological stability, determined by calculation based on the growth of total aerobic count, showed a shelf life of 85 days, while the cost of production was \$ 46.92 / kg, under this experiment conditions.

Keywords: Moisture, sensory properties, sucralose

* Autor de correspondencia: William Teneda. E-Mail: wf.teneda@uta.edu.ec



1. INTRODUCCIÓN

La uvilla (*Physalis peruviana* L.), es una fruta de gran importancia en Ecuador. Este cultivo se caracteriza por estar en manos de pequeños productores, con un bajo poder económico, en la mayoría de los casos en terrenos de ladera y con muy baja capacitación técnica. La zona de mayor aptitud para este cultivo se ubica en el Callejón Interandino: Mira, Otavalo, Cotacachi, Puenbo, Salcedo, Píllaro, Ambato, Patate, Guamote, Biblián, Cuenca y Machachi (Sernaqué y Andrade, 2005).

Ecuador se encuentra en una excelente ubicación geográfica y cuenta con buen clima, esto hace posible que se cultiven una amplia diversidad de productos agrícolas, entre ellos los no tradicionales como la uvilla, que es una fruta de buen sabor que tiene propiedades medicinales, lo que ha despertado interés a nivel internacional (Beltrán, 2009).

Autores como Castro et al., (2006) han estudiado la cinética de deshidratación osmótica en uvilla en soluciones de miel de abeja con diferentes concentraciones, concluyendo que no siempre una disolución con elevada concentración garantiza una ganancia de solutos y una pérdida de agua mayor.

Caicedo et al., (2012) estudiaron la deshidratación osmótica, siendo esta una operación de secado parcial que permite obtener productos mínimamente procesados de alta calidad organoléptica. Sin embargo, en la industria de procesamiento de frutas, la mayor desventaja para la industrialización de esta operación es el manejo de jarabes de sacarosa, que son considerados como desechos. En este estudio se mostraron los resultados del estudio de la reutilización de jarabes provenientes de deshidratación osmótica de mora de Castilla (*Rubus glaucus*) y tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*), llegándose a la conclusión de que después de tres ciclos de uso no hubo diferencia significativa ($p > 0,05$) en cuanto a pérdida de agua, ganancia de sólidos y pH final del jarabe, lo que lo hacía viable en la reutilización del proceso.

Giraldo et al., (2005) realizaron ensayos en mora (*Rubus glaucus*) y uvilla (*Physalis peruviana*), con geometrías semiesféricas (mitades). La cinética de mora mostró mejor respuesta en el tratamiento con disolución de sacarosa a 65 °Brix, mientras que la uvilla presentó una buena respuesta en disoluciones entre 65 y 55 °Brix.

Larrea (1997) llevó a cabo un estudio de deshidratación de ajo cultivado en la provincia de Tungurahua en el cual tuvo por objetivo prolongar la vida útil del producto, sometiénolo a un proceso de deshidratación, obteniendo conclusiones que pudieron llevar a la instalación de una planta industrial en la provincia de Tungurahua.

Leirici et al., (1985) mostraron que con el tratamiento osmótico se pudo obtener un producto de humedad alta o intermedia, por lo que se vio necesario llevar a cabo un procesamiento subsiguiente para alcanzar un producto estable.

Desde los primeros estudios en los años 60, el tratamiento osmótico ha sido estudiado en combinación con otras técnicas como el secado convencional, el secado al vacío, la liofilización, el secado solar, la pasteurización térmica, el enlatado, la congelación, la adición de preservantes y/o acidificantes y el uso de revestimientos con películas comestibles superficiales. El campo de aplicación de esta técnica es amplio teniendo a las frutas, vegetales, carne y pescado como los principales productos tratados osmóticamente, con un posterior procesamiento convencional de secado, obteniéndose mejoras en sus características de calidad cuando se comparan con productos obtenidos sin tratamiento osmótico.

Soluciones acuosas binarias y terciarias de mono, di y polisacáridos, sales orgánicas, mono y polioles pueden ser usadas como agentes osmóticos. El mejoramiento de las propiedades nutricionales, sensoriales o funcionales o la estabilidad en el almacenamiento de los productos finales se logran por la modificación de la composición química del material alimenticio a través de una remoción controlada de agua y una incorporación selectiva de solutos. Las principales razones para el interés actual del proceso de deshidratación osmótica son la alta calidad de los productos, conjuntamente con el ahorro de energía, y la remoción hasta el 50 % del contenido de humedad inicial a bajas temperaturas sin cambio de fase.

Mercado y Vidal (1994), estudiaron la deshidratación osmótica de manzana Grany Smith con diferentes soluciones osmóticas, asegurando que la composición del jarabe y particularmente los polisacáridos influyen de manera directa, disminuyendo la ganancia de sólidos en los productos. Adicionalmente, se ha observado que la reducción en el contenido de agua y la ganancia de azúcares presenta algunos efectos crioprotectores sobre el color y la textura de las frutas. Algunas de las ventajas establecidas en el proceso de deshidratación osmótica en comparación con otros métodos de secado incluyeron mejora de propiedades funcionales y nutritivas (Moreira y Sereno, 2003).

En la presente investigación se pretendió evaluar el efecto de la sustitución parcial de azúcar por un edulcorante no calórico, así como el tiempo de concentración osmótica y la temperatura de secado, para mejorar las propiedades sensoriales de la uvilla deshidratada osmóticamente.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Para la deshidratación de la uvilla se procedió de la siguiente manera: se adquirió uvilla proveniente del cantón Quero de la provincia de Tungurahua, verificándose la calidad de la materia prima tomando en cuenta su estado de madurez, color y un tamaño regular en todo el lote. Se lavó con agua a fin de eliminar impurezas y cuerpos extraños. Previo a esto se preparó la solución de edulcorante manteniendo siempre 60 °Brix. Las dosis de edulcorantes consideradas fueron: 1190 g de sacarosa + 0.85 g de sucralosa / L de agua y 510 g de sacarosa + 1.98 g de sucralosa / L de agua. A continuación se adicionó metabisulfito de sodio a una concentración de 150 mg·L⁻¹, para prevenir pardeamiento enzimático además de controlar el crecimiento de microorganismos. Seguidamente se sumergió la fruta en las soluciones osmóticas en proporción 1:2 (fruta:solución), manteniendo un tiempo de reposo de 2 a 4 horas con agitación continua. Tras esto se escurrió la solución y finalmente se colocó en bandejas de secado a 40 o 60 °C, según el caso, hasta alcanzar a una humedad menor al 15 %.

Finalmente, el producto seco se empacó y almacenó en bolsas plásticas de PE, evitando el contacto con humedad o calor excesivo.

La calidad microbiológica se determinó mediante recuento de coliformes (AOAC, 1994b) y aerobios mesófilos totales (AOAC, 1994a), tomados como referencia para el cálculo de vida útil. Este fue realizado mediante siembras microbiológicas cada

7 días para observar la estabilidad de las uvillas deshidratadas mantenidas a temperatura ambiente (18-20 °C).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Según la pérdida de peso de la fruta en el tratamiento osmótico, en los resultados experimentales se evidenció la existencia de una dependencia de las isotermas con la temperatura de secado (Fig. 1).

En el análisis sensorial la prueba de Tukey señaló que el tratamiento con 510 g de sacarosa + 1,98 g de sucralosa en 1 m³ de agua, 4 horas de concentración osmótica y 60 °C de temperatura de secado (A₀B₁C₀), y el tratamiento con 1760 g de sacarosa en 1 m³ de agua, 4 horas de concentración y secado a 40 °C (A₂B₁C₁), fueron los que presentaron mayor aceptabilidad en cuanto al análisis sensorial. Sin embargo, para definir el mejor tratamiento se realizó una estimación de costos de estos dos tratamientos, observándose la existencia de una diferencia significativa en cuanto al costo de producción del producto deshidratado. De esta manera, los tratamientos A₀B₁C₀ y A₂B₁C₁ presentaron, en un formato de 200 gramos, unos costes de producción de \$6,79 y \$3,91 respectivamente. De acuerdo a esto, se estableció que el tratamiento más conveniente resultó ser el A₂B₁C₁ (510 g de sacarosa +1.98 g de sucralosa en 1 m³ de agua, 4 horas de concentración osmótica y secado a 60 °C), con un rendimiento del 20,43 %.

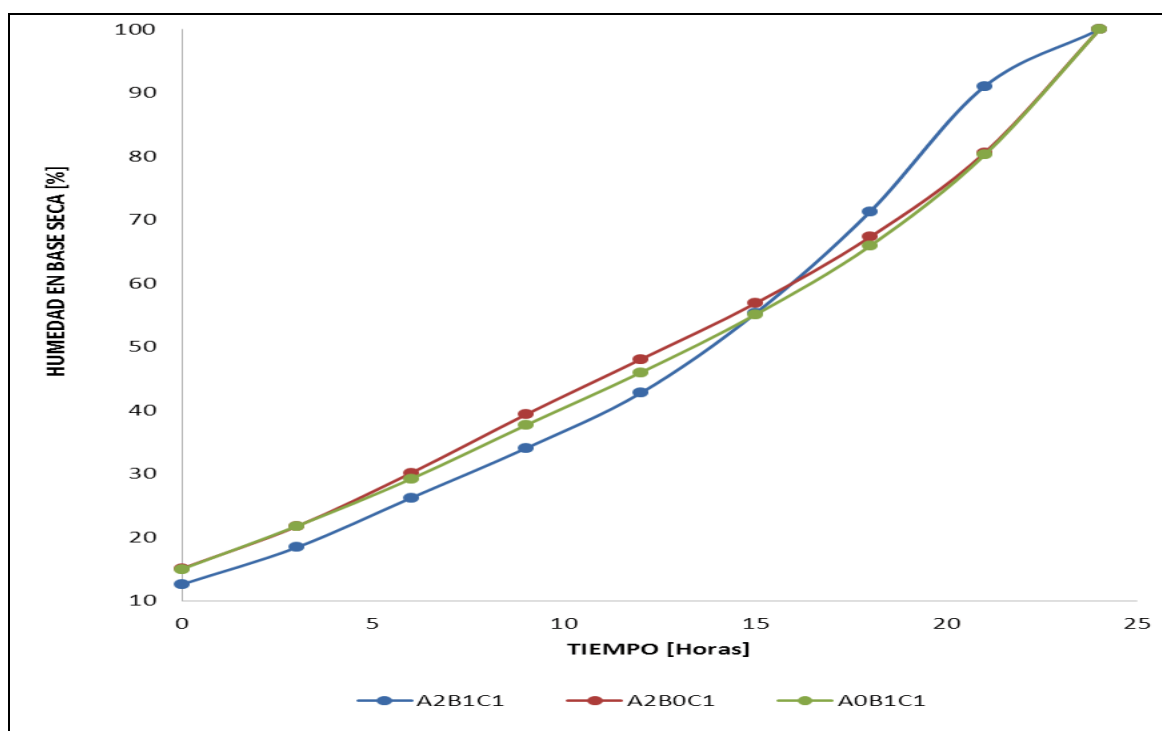


Figura 1. Isothermas de sorción de los mejores tratamientos de secado de uvilla, previamente sometida a tratamiento osmótico

En la Tabla 1 se muestran los parámetros iniciales y finales de la uvilla, pudiendo observar como la humedad disminuyó drásticamente en un lapso de 24 horas.

Tabla 1. Parámetros físico-químicos iniciales y finales de uvilla

Parámetros	Inicial	Final
pH	3,66	4,17
°Brix	9,5	33,0
Acidez	0,29	0,10
% Humedad	72,42	15,60

Llevando a cabo la comparación de los análisis proximales obtenidos con las características de un producto similar producido comercialmente por *Isabelle Fruits* (B2B ECUADOR S.A., 2012) se puede observar una diferencia significativa en cuanto a la cantidad de proteína (0,1-0,3 % para el producto comercial, frente a un 6,68 % del producto experimental) y fibra (5-7% para el producto comercial, frente a un 12,7 % del producto experimental). Con esto se puede decir que se mejoraron sustancialmente las características nutricionales del producto deshidratado.

El estudio de vida útil permitió observar la estabilidad de las uvillas deshidratadas mantenidas a temperatura ambiente (18-20 °C), obteniendo los resultados de la Tabla 2.

Tabla 2. Evolución de la carga microbiana durante el almacenamiento a temperatura ambiente (18-20 °C) de uvilla deshidratada (510 g de sacarosa + 1,98 g de sucralosa en 1 m³ de agua, 4 horas de concentración osmótica y secado a 60 °C)

Tiempo (días)	Aerobios mesófilos tot.		Coliformes totales	
	1·10 ⁻¹	1·10 ⁻²	1·10 ⁻¹	1·10 ⁻²
0	0	0	0	0
3	0	0	0	0
7	1	0	0	0
14	1	0	0	0
21	2	0	0	0
28	3	0	0	0
35	5	0	0	0
42	6	1	0	0
49	7	1	0	0

A partir de dichos resultados se obtuvo la ecuación de cinética de reacción (Singh y Heldman, 2009) que se puede observar en la Fig. 2.

Por tanto, a temperatura ambiente y, considerando un valor máximo permitido, de 1000 UFC·g⁻¹ para el recuento de aerobios mesófilos totales (MINSA, 2008) se estableció aproximadamente la vida de anaquel de la uvillas deshidratadas osmóticamente

y empacadas en fundas de polietileno de baja densidad (PEBD) de alrededor de 84-85 días.

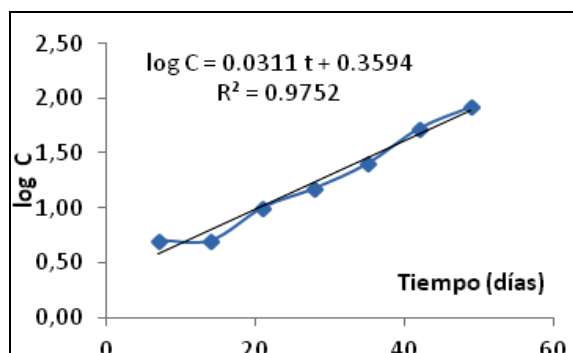


Figura 2. Análisis microbiológico para el cálculo del tiempo de vida útil (TVU).

4. CONCLUSIONES

Se realizó el estudio del efecto de diversas variables, como el porcentaje de sustitución del edulcorante en una solución osmótica, tiempo en el sumergido de la fruta dentro de la solución osmótica y la temperatura del tratamiento térmico, en la deshidratación osmótica-térmica al que fue sometida la uvilla. El tratamiento a base de 510 g de sacarosa +1.98 g de sucralosa en 1 m³ de agua, 4 horas de concentración osmótica y secado a 60°C, permitió obtener un rendimiento del 20,43 % en el proceso, a un coste de \$ 3,91 por cada lote de 200 g de producto. Dicho producto, se estimó tener una vida útil estimada de 84-85 días, envasado en bolsas de polietileno de baja densidad, almacenado a temperatura ambiente (18-20 °C).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC. (1994a). AOAC Official Method 990.12. Aerobic Plate Count in Foods. Dry Rehydratable Film. (Petrifilm™ Aerobic Count Plate) Method (pp. 1). : AOAC INTERNATIONAL.

AOAC. (1994b). AOAC Official Method 991.14. Coliform and *Escherichia coli* Counts in Foods. Dry Rehydratable Film. (Petrifilm™ *E. coli*/Coliform Count Plate™ and Petrifilm™ Coliform Count Plate™) Methods (pp. 2). : AOAC INTERNATIONAL.

B2B ECUADOR S.A. (2012). Uvilla Deshidratada. Ficha técnica. <http://www.b2becuador.net/driedfruits/pdf/uvilla.pdf>. Samborondón (Ecuador).

Beltrán, A. P. (2009). *Producción y Exportación de Uvilla (Physalis peruviana L.) al mercado de*

Alemania. MSc. Thesis, Universidad Tecnológica Equinoccial, Quito (Ecuador).

Caicedo, M., Serrano, J., Sánchez, O., Moreno, Y., Klotz, B., y Ruiz, Y. (2012). Efecto de la reutilización de jarabes provenientes de la osmodeshidratación de frutas sobre parámetros de transferencia de masa. *Vitae*, 19(1), S174-S176.

Castro, A., Manjarres, K., Ospina, A., y Pineda, Y. (2006). Estudio de la cinética de deshidratación osmótica de la uchuva (*Physalis peruviana*). *Boletín Alimenticio*, 3, 6. Retrieved from <http://avalon.utadeo.edu.co/dependencias/publicaciones/alimentica3/uchuvas.pdf>

Giraldo, G., Germán, A., Duque, C., Alba, L., Mejía, D., y Clara, M. (2005). La deshidratación osmótica como pretratamiento en la conservación de mora (*Rubus glaucus*) y uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Vitae*, 12(1), 15-22.

Larrea, O. (1997). *Deshidratación de ajo cultivado en la Provincia de Tungurahua*. BSc. Thesis, Universidad Técnica de Ambato, Ambato (Ecuador).

Lerici, C., Pinnavaia, G., Dalla Rosa, M., y Bartolucci, L. (1985). Osmotic dehydration of Fruit: Influence of osmotic Agents on Drying Behavior and product Quality. *Journal of Food Science*, 50(5), 1217-1219. doi: 10.1111/j.1365-2621.1985.tb10445.x

Mercado, E., y Vidal, D. (1994). Deshidratación osmótica de manzana (Granny Smith) con diferentes soluciones osmóticas. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 44(2), 117-121.

MINSA. (2008). NTS N° 071-MINSA-DIGESA-V.01. Norma Peruana. Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano (pp. 23). Lima (Perú).

Moreira, R., y Sereno, A. (2003). Evaluation of mass transfer coefficients and volumetric shrinkage during dehydration of apple using sucrose solutions in static and non-static conditions. *Journal of Food Engineering*, 57, 25-31.

Sernaqué, E., y Andrade, M. (2005). *Proyecto de desarrollo de vino elaborado a base de uvilla y su comercialización en el mercado ecuatoriano*. Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil (Ecuador).

Singh, R. P., y Heldman, D. R. (2009). *Introducción a la Ingeniería en Alimentos* (3ª ed.). Zaragoza (España): Editorial Acribia, S.A.



Alimentos, Ciencia e Investigación. 2015, 23(1) 52-55

ESTUDIO PRELIMINAR DE MICROENCAPSULACIÓN DE ACEITE DE CALABAZA AMARGA

PRELIMINARY ESTUDY OF GAC OIL MICROENCAPSULATION

*O. D. López¹, A. Romero², A. Nogueira²

⁽¹⁾Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Universidad Técnica de Ambato (UTA), Ambato, Ecuador

⁽²⁾Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM), La Habana, Cuba

Artículo recibido: 28/01/15

Artículo aceptado: 25/05/15

RESUMEN

El gac o calabaza amarga (*Momordica cochinchinensis* (Lour) Spreng.) es una planta perenne de la familia de las cucurbitáceas, cuyos frutos están reconocidos como los de mayor contenido de beta carotenos entre frutas y verduras, por lo que es una fruta que potencialmente puede ser utilizada para hacer un ingrediente funcional o farmacéutico. Los beta carotenos presentes en el aceite de los frutos de esta planta tienen reportada actividad antioxidante, por lo que se hace necesario ofrecer una protección de estos compuestos microencapsulándolos a través del secado por aspersión. En el presente trabajo se realizó un estudio preliminar de microencapsulación del aceite de calabaza amarga, alcanzándose una elevada eficiencia de encapsulación de los carotenoides presentes y demostrándose la factibilidad de su microencapsulación.

Palabras clave: Carotenoides, *Momordica cochinchinensis*, ingrediente funcional, secado por aspersión.

ABSTRACT

Gac (*Momordica cochinchinensis* (Lour) Spreng.) is a perennial plant of the family *Cucurbitaceae*, which fruits are recognized as having the highest content of beta-carotene amongst fruits and vegetables, so is a fruit that can potentially be used to make functional or pharmaceutical ingredients. The carotenoids present in the fruit's oil of this plant are reported to have antioxidant activity. Spray drying microencapsulation is one of the better methods to provide protection for these labile compounds. In this paper a preliminary study of microencapsulation of gac oil was performed, reaching a high encapsulation efficiency of carotenoids present and demonstrating the feasibility of microencapsulation.

Keywords: Microcapsules, carotenoids, *Momordica cochinchinensis*, functional ingredient, spray drying.

* Autor de correspondencia: Orestes Darío López. E-Mail: od.lopez@uta.edu.ec

1. INTRODUCCIÓN

El gac o calabaza amarga (*Momordica cochinchinensis* (Lour) Spreng.) es una planta de la familia cucurbitáceas. Produce frutos pequeños, levemente espinosos y de color naranja. Los arilos que rodean a las semillas son de un intenso color rojo sangre y presentan la concentración más alta de betacarotenos encontrada en frutas y verduras. La planta crece en India y el sureste de Asia (Lim, 2012). Los carotenoides mayoritarios son beta caroteno, licopeno, zeaxantina y beta-criptoxantina (Aoki et al., 2002; Mai et al., 2014). Además están presentes también ácidos grasos saturados e insaturados (Ishida et al., 2004).

La microencapsulación es un proceso mediante el cual las sustancias bioactivas son introducidas en una matriz polimérica con el objetivo de protegerla de la reacción con otros compuestos presentes o impedir que sufran reacciones de oxidación (McNamee et al., 2001; Pedroza-Islas, 2002; Yoshii et al., 2003). Además, provee un medio de envasar, separar y almacenar materiales a escala microscópica para su liberación posterior bajo condiciones controladas (Rodríguez-Huezo et al., 2004).

Dentro de los métodos físicos más utilizados para este proceso, el secado por aspersión, es el más ampliamente utilizado para microencapsular ingredientes alimenticios, por ser el más económico (Masters, 1991; Sootitawat et al., 2004; Sootitawat et al., 2003). El objetivo del presente trabajo consistió en realizar un estudio preliminar para determinar la factibilidad de empleo del proceso de microencapsulación mediante secado por aspersión para el aceite de *Momordica cochinchinensis*.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Para el estudio se empleó aceite de calabaza amarga, obtenido en el laboratorio de fitoquímica del Instituto de Materia Médica de Vietnam IMM, Hanoi. Como polímeros encapsulantes se emplearon maltodextrina DE 20, grado alimenticio (Roig Farma ref. 0511620) y goma arábiga libre de oxidasas (Roig Farma ref. 600452). Todos fueron pesados en una balanza técnica Mettler Toledo XPE de 0,1 mg de precisión.

Se preparó una dispersión de los polímeros encapsulantes a una concentración de 40 % p/p de cada uno en agua destilada, empleando un homogeneizador Ultraturrax T25 (Ika Werk) en un intervalo de velocidades entre 8000 y 24000 min⁻¹. Seguidamente se adicionó el aceite en una concentración de 20 % p/p para cada caso y se mantuvo en agitación 5 min a 16000 min⁻¹. La dispersión preparada se alimentó a un secador por

aspersión (Minispray Dryer BÜCHI, B-191; Suiza), con flujo de aire de secado y alimentación en paralelo, atomizador de tipo tobera de dos fluidos, empleando un flujo de aire de atomización de 600 L/h, una temperatura de entrada del aire de 120 °C y una Temperatura de salida del aire de 90 °C.

La concentración de carotenoides totales fue determinada disolviendo 1 g de microcápsulas en 6 mL de una mezcla en proporción 1:1 (v/v) de cloruro de sodio disuelto en agua bidestilada al 10 % y metanol en un tubo de ensayo. La muestra fue agitada durante 10 minutos y luego se añadieron 30 mL de una mezcla hexano y acetona (grado p.a.) en proporción 1:1 (v/v). El contenido del tubo fue centrifugado a 3000 min⁻¹ durante 10 min a 10 °C en una centrífuga Hettich Rotanta 460R, con un radio de rotor de 10 cm (Andreas Hettich GmbH, Alemania). La absorbancia del sobrenadante fue medida a 460 nm en espectrofotómetro UV-Visible (Spectronic, Genesys 2, USA). Los carotenoides en la superficie de las microcápsulas fueron determinados mediante el lavado de 1 g del polvo con una mezcla de hexano y acetona en proporción 1:1 (v/v), siguiendo el resto del procedimiento de igual forma.

La cantidad de carotenoides presente en las microcápsulas fue calculada mediante la Ecuación 1 (Britton, 1996):

$$X = \frac{A \times Y}{A_{1\text{cm}}^{1\%}} \times 100 \quad \text{Ec. 1}$$

Donde:

X es la masa de carotenoides en g,

Y es el volumen de solución en mL,

A es la absorbancia medida,

$A_{1\text{cm}}^{1\%}$ es el coeficiente de absorción específico de 1 g de carotenoides en 100 mL de solución

La eficiencia de microencapsulación (EM) fue calculada siguiendo el método de McNamee et al. (McNamee, et al., 2001), empleando la Ecuación 2:

$$EM = \frac{CT - CS}{CT} \times 100 \quad \text{Ec. 2}$$

Donde:

CT es el contenido de carotenoides total, (%)

CS es el contenido de carotenoides superficial, (%)

Los espectros infrarrojos fueron obtenidos utilizando un espectrómetro ATR-FTIR con dispositivo de reflexión total atenuada Nicolet IR 100 (Alemania).



3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como resultados se alcanzó una elevada eficiencia de encapsulación, siendo de $99,42 \pm 0,13$ % referida al contenido de carotenoides totales en el aceite, por lo que de forma cuantitativa se demostró que el proceso de microencapsulación no afectó el contenido de los carotenoides de este aceite ya que

posterior al proceso de microencapsulación se recuperó un elevado contenido de los carotenoides presentes.

En la Figura 1 se muestran los espectros infrarrojos superpuestos de forma comparativa del aceite sin microencapsular, del aceite microencapsulado y la mezcla de polímeros utilizados.

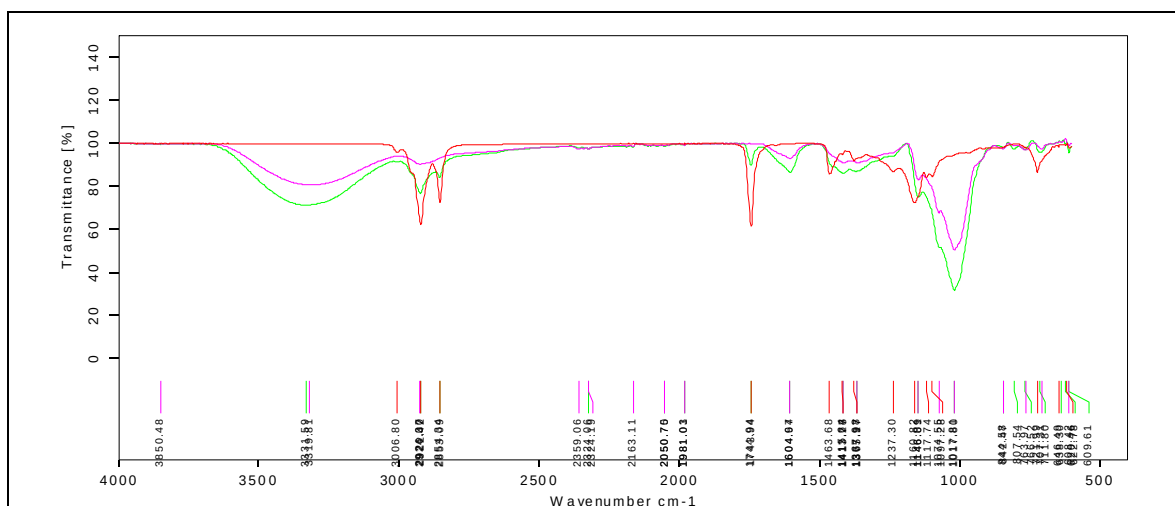


Figura 1. Espectros en la banda del infrarrojo del aceite de calabaza amarga sin microencapsular (rojo), microencapsulado (morado) y de los polímeros de recubrimiento (verde).

La ausencia de las bandas características que mostró el aceite entre 2800 y 3000 cm^{-1} y entre 1400 y 1700 cm^{-1} , que corresponden al grupo carboxilo en el espectro de la sustancia microencapsulada y en el de la mezcla de polímeros respectivamente, indicaron la eficiencia de enmascaramiento del aceite en la microcápsula. Estas bandas se observaron minimizadas en el espectro de las microcápsulas y de la mezcla de los polímeros, por lo que se demostró la efectividad del proceso de microencapsulación.

4. CONCLUSIONES

Se demostró la factibilidad de la microencapsulación del aceite de calabaza amarga empleando como polímeros de recubrimiento la combinación de maltodextrina y goma arábiga, por lo que se pueden continuar estudios de optimización de los componentes de pared y de estabilidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aoki, H., Kieu, N. T., Kuze, N., Tomisaka, K., y Van Chuyen, N. (2002). Carotenoid pigments in Gac fruit (*Momordica cochinchinensis* Spreng.). *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 66(11), 2479-2482.

Britton, G. (1996). Carotenoids. En: Hendry G. A. F. & Houghton J. D. (Eds.), *Natural foods colorantes* (pp. 107-243). Ciudad: Blackie Academic & Professional.

Ishida, B. K., Turner, C., Chapman, M. H., y McKeon, T. A. (2004). Fatty acid and carotenoid composition of Gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng) fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(2), 274-279. doi: 10.1021/jf030616i

Lim, T. K. (2012). *Momordica cochinchinensis*. En: Lim T. K. (Ed.), *Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants. Vol. 2, Fruits*. (pp. 369-380). Ciudad: Springer.

Mai, H. C., Truong, V., y Debaste, F. (2014). Carotenoids concentration of Gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng.) fruit oil using cross-flow filtration technology. *Journal of Food Science*, 79(11), 2222-2231.

Masters, K. (1991). The spray drying Handbook (pp. 329-556). Ciudad: Longman Scientific Publication.

McNamee, B., Dolores, E., y O'Sullivan, M. (2001). Effect of Partial Replacement of Gum Arabic with Carbohydrates on Its Microencapsulation Properties. *Journal of*



- Agricultural and Food Chemistry*, 49(7), 3385-3388. doi: 10.1021/jf001003y
- Pedroza-Islas, R. (2002). *Alimentos Microencapsulados: Particularidades de los procesos para la microencapsulación de alimentos para larvas de especies acuícolas*. Paper presented at the Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, Cancún, Quintana Roo (México). http://www.uanl.mx/utillerias/nutricion_acuicola/VI/archivos/A26.pdf
- Rodriguez-Huezo, M. E., Pedroza-Islas, R., Prado-Barragan, L. A., Beristan, C. I., y Vernon-Carter, E. J. (2004). Microencapsulation by Spray Drying of Multiple Emulsions Containing Carotenoids. *Journal of Food Science*, 69(7), 351-359. doi: 10.1111/j.1365-2621.2004.tb13641.x
- Sootitawat, A., Yoshii, H., Furuta, T., Ohgawara, M., Forsell, P., Partanen, R., et al. (2004). Effect of Water Activity on the Release Characteristics and Oxidative Stability of d-Limonene Encapsulated by Spray Drying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(5), 1269-1276. doi: 10.1021/jf035226a
- Sootitawat, A., Yoshii, H., Furuta, T., Ohgawara, M., y Linko, P. (2003). Microencapsulation by Spray Drying: Influence of Emulsion Size on the Retention of Volatile Compounds. *Journal of Food Science*, 68(7), 2256-2262. doi: 10.1111/j.1365-2621.2003.tb05756.x
- Yoshii, H., Furuta, T., y Sootitawat, A. (2003). Microencapsulation of food flavors by spray drying. En: D.R. Heldman (Ed.), *Encyclopedia of Agricultural, Food, and Biological Engineering*. Ciudad: Taylor & Francis.



Alimentos, Ciencia e Investigación. 2015, 23(1) 56-59

ESTUDIO PRELIMINAR DE OBTENCIÓN DE UNA NANOSUSPENSIÓN DE MANGUIFERINA

OBTENTION OF A MANGUIFERIN NANOSUSPENSION PRELIMINARY STUDY

***O. D. López¹, L. W. Turiño², A. Nogueira³**

⁽¹⁾Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Universidad Técnica de Ambato (UTA), Ambato, Ecuador

⁽²⁾Centro de Estudios Avanzados de Cuba (CEAC), La Habana, Cuba

⁽³⁾Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM), La Habana, Cuba

Artículo recibido: 28/01/15

Artículo aceptado: 31/05/15

RESUMEN

La mangiferina es el principal polifenol constituyente de las hojas, frutos y corteza del mango. Debido a que cuando se aísla su solubilidad es baja, esto hace que su absorción disminuya, por lo que se hace necesario realizar alguna transformación que contribuya a mejorar su absorción. Entre los métodos utilizados para mejorar la absorción de un compuesto se encuentran el uso de disolventes orgánicos que generalmente causan toxicidad o la transformación de la estructura química de la molécula, que es más complejo. En el presente trabajo se logró obtener una suspensión de partículas de tamaño nanométrico (6,54 nm) empleando una mezcla de etanol y un tensioactivo en combinación con factores físicos como la temperatura y energía mecánica, lo que contribuirá al incremento de absorción debido al pequeño tamaño.

Palabras clave: Polifenol, solubilidad, absorción, tensioactivo

ABSTRACT

The mangiferine is the main constituent polyphenol leaves, fruits and bark of mango. Its low solubility when isolated, make decrease its absorption, so it is necessary to perform some processing to improve its absorption. The usual methods to improve absorption of this compound include the use of organic solvents which generally cause toxicity or modification the chemical structure of the molecule adding more complexity to processes. In this work it was possible to obtain a suspension of nanometric particles (6,54 nm) using a mixture of ethanol and a surfactant in combination with physical factors such as temperature and mechanical energy, which will contribute to increased absorption by the small size.

Keywords: Polyphenol, solubility, absorption, tensioactive

* Autor de correspondencia: Orestes Darío López. E-mail: od.lopez@uta.edu.ec

1. INTRODUCCIÓN

La mangiferina es la denominación común de un compuesto químico denominado 2-β-D-glucopiranosil-1,3,6,7-tetrahidroxi-9H-xanten-9-ona. Es un compuesto polifenólico que se encuentra en mayor concentración en las hojas, corteza y frutos de la *Mangifera indica* L., conocida comúnmente como mango. Tiene un color amarillo pálido, una masa molecular de $421,22 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ y un punto de fusión de $272 \text{ }^{\circ}\text{C}$ con descomposición, debiéndose almacenar a temperatura ambiente, protegida de la humedad y la luz. Posee una extensa actividad biológica (Born et al., 1996; Guha et al., 1996).

En la literatura se ha reportado amplia actividad farmacológica (García-Rivera et al., 2011; Wei et al., 2011). Se reporta, además, que la mangiferina posee actividad antidiabética (Miura y Ozawa, 2000), antitumoral (Yoshimi et al., 2001), inmunomoduladora (Guha, et al., 1996) y antiviral (Zhu et al., 1993).

La obtención de nanosuspensiones basada en el cizallamiento se genera en base a la energía mecánica aportada para conseguir la desintegración del sistema de micropartículas a nanopartículas. En este proceso, se expone la suspensión a unas condiciones de alto de cizallamiento por agitación para generar la nanosuspensión. La flexibilidad para utilizar grandes cantidades de fármacos y la baja variabilidad en el tamaño de las partículas entre los distintos lotes constituyen las virtudes principales de esta técnica (Patel y Agrawal, 2011). El objetivo del presente trabajo consistió en un estudio preliminar de obtención de una nanosuspensión de partículas de mangiferina.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Para el estudio se empleó mangiferina obtenida en el laboratorio de investigación y desarrollo de materias primas naturales del Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM) de La Habana, Cuba, aislada a partir de extracto acuoso de corteza de *Mangifera indica* L.

Para la obtención de la nanosuspensión se empleó un homogeneizador Ultra-Turrax T25 (IKA Works Inc. USA), aplicando un intervalo de velocidades entre 8000 y 24000 min^{-1} . Se preparó una suspensión de la mangiferina en agua en una concentración de $5 \text{ } \%$ (p/v) y se realizaron diferentes tratamientos a temperatura ambiente ($20 \text{ }^{\circ}\text{C}$) y a $75 \text{ }^{\circ}\text{C}$, empleando una velocidad de 24000 min^{-1} durante diferentes tiempos. Se fue observando de forma cualitativa la sedimentación de la suspensión, posteriormente se adicionó $50 \text{ } \%$ de etanol absoluto Merck para disminuir la viscosidad del sistema y $0,1 \text{ } \%$ (p/v) de Polisorbato 80 Merck, para disminuir la tensión interfacial. Para la pesada de la mangiferina y el polisorbato 80 se empleó una balanza técnica Mettler de $0,1 \text{ g}$ precisión.

El tamaño de partícula se determinó en un analizador IG-1000 (Shimadzu, Japón). Para ello se preparó una dilución de la nanosuspensión al $1 \text{ } \%$ (p/v) y se tomó una alícuota de $300 \text{ } \mu\text{L}$ para realizar la medición, seleccionando una frecuencia de 350 kHz , un voltaje de 30 V y un tiempo de $0,10 \text{ s}$. De los datos que ofrece el equipo se seleccionó el histograma y un resumen de los datos del análisis que incluyó la media, mediana, moda, desviación estándar y porcentaje de distribución.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se muestran en la Tabla 1 los datos de los diferentes tratamientos realizados y la descripción de la observación de la sedimentación.

Tabla 1. Tratamientos realizados y su sedimentación

Tiempo cizallamiento (min)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Tamaño (nm)	Descripción de la sedimentación observada
2	75	-	Sedimentación rápida de las partículas
1	20	$99,26 \pm 0,08$	Sedimentación lenta de las partículas
2	20	-	Sedimentación muy lenta de las partículas
1	20	$6,54 \pm 0,06$	Solo se observa ligera opalescencia, no hay sedimentación *

* En este tratamiento además se adicionó $50 \text{ } \%$ de etanol y $0,1 \text{ } \%$ de polisorbato 80



Como se observa, el tratamiento inicial de 2 min a 75 °C, no fue suficiente para la formación de una nanoemulsión, sin embargo en este caso es recomendable el empleo de esta temperatura ya que contribuye a disminuir la viscosidad en esa primera etapa en la que el producto está formado principalmente por micropartículas. En los sucesivos tratamientos a temperatura ambiente se apreció una disminución de la sedimentación de las partículas, alcanzándose con los dos primeros tratamientos un tamaño de $99,26 \pm 0,08$ nm, valor que se superó con el tratamiento posterior, lográndose una total suspensión sin sedimentación

cuando se realizó el último tratamiento. En este caso, además de la energía de agitación se empleó un 50 % de etanol que contribuyó a disminuir la viscosidad y 0,1 % de polisorbato 80 que tiene como función la disminución de la tensión en la interfase entre las partículas y el líquido, lo que permitió alcanzar un tamaño medio de partícula de $6,54 \pm 0,06$ nm. Seguidamente, en la Figura 1 se muestra la distribución de tamaños de la nanosuspensión resultante de todo este tratamiento, así como los datos estadísticos de distribución del tamaño de partículas que ofreció el programa.

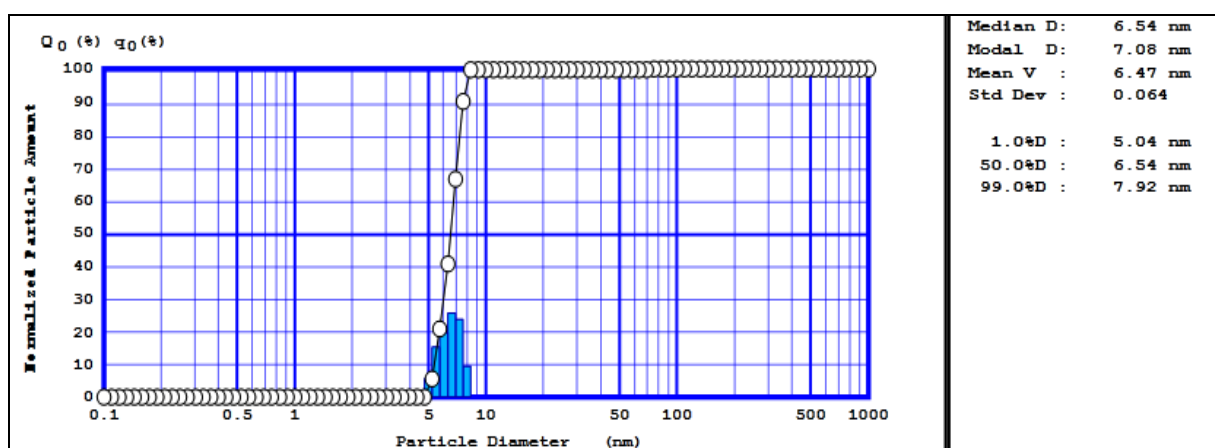


Figura 1. Histograma con la distribución de tamaños de la nanosuspensión obtenida.

Como se aprecia en el histograma, se obtuvo una distribución unimodal con una alta agrupación de tamaños reflejada por los diámetros correspondientes al primer y penúltimo percentil, 5,02 nm y 7,92 nm, con un valor promedio representado por la mediana de 6,54 nm y una desviación estándar de 0,06 nm. Se observó la existencia de una correspondencia total entre la observación visual de la desaparición de la sedimentación y los resultados de la determinación de tamaño, lo que demostró la efectividad del tratamiento para formar una nanosuspensión.

El tratamiento propuesto se puede resumir en un tiempo de cizallamiento de 5 min a una velocidad de 24000 min^{-1} combinando el incremento de temperatura inicial para disminuir la viscosidad y ayudar a reducir considerablemente el tamaño de micropartículas a nanopartículas, seguido del cizallamiento por 1 min a temperatura ambiente en presencia de etanol al 50 % de y de polisorbato 80 al 0,1 %, lo que conllevó a la formación de una nanosuspensión con un tamaño de partícula cuyo intervalo promedio está entre 5 y 8 nm, según se muestra en la Figura 1.

4. CONCLUSIONES

El procedimiento propuesto que combina la energía mecánica con la temperatura y la presencia de etanol y polisorbato 80, permite obtener una nanosuspensión en condiciones sencillas, con componentes de baja toxicidad, que contribuirá a mejorar la absorción por la reducción del tamaño de las partículas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Born, M., Carrupt, P. A., Zini, R., Brée, F., Tillement, J. P., Hostettmann, K., et al. (1996). Electrochemical Behaviour and Antioxisant Activity of Some Natural Polyphenols. *Helvetica Chimica Acta*, 79(4), 1147-1158. doi: 10.1002/hlca.19960790422
- García-Rivera, D., Delgado, R., Bougarne, N., Haegeman, G., y Berghe, W. V. (2011). Gallic acid indanone and mangiferin xanthone are strong determinants of immunosuppressive anti-tumour effects of *Mangifera indica* L. bark in



- MDA-MB231 breast cancer cells. *Cancer Letters*, 305(1), 21-31. doi: 10.1016/j.canlet.2011.02.011
- Guha, S., Ghosal, S., y Chattopadhyay, U. (1996). Antitumor, immunomodulatory and anti-HIV effect of mangiferin: A naturally occurring glucosylxanthone. *Chemotherapy*, 42, 443-451.
- Miura, Y., y Ozawa, T. (2000). Non-invasive study of radiation-induced oxidative damage using in vivo Electron Spin Resonance. *Free Radical Biology and Medicine*, 28, 854-859.
- Patel, V., y Agrawal, Y. (2011). Nanosuspension: An Approach to Enhance Solubility of Drugs. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*, 2(2), 81-87. doi: 10.4103/2231-4040.82950
- Wei, Z. Q., Deng, J. G., y Yan, L. (2011). Pharmacological Effects of Mangiferin. *Chinese Herbal Medicines*, 3(4), 266-271.
- Yoshimi, N., Matsunaga, K., Katayama, M., Yamada, Y., Kuno, T., Qiao, Z., et al. (2001). The inhibitory effects of mangiferin, a naturally occurring glucosylxanthone, in bowel carcinogenesis of male F344 rats. *Cancer Letters*, 163(2), 163-170.
- Zhu, X., Song, J. X., Huang, Z. Z., Wu, Y. M., y Yu, M. J. (1993). Antiviral activity of mangiferin against herpes simplex virus type 2 in vitro. *Zhongguo Yao Li Xue Bao*, 14(5), 452-454.



INFLUENCIA DEL PROCESO DE MICROENCAPSULACIÓN EN LOS ÁCIDOS GRASOS DEL ACEITE DE SALVIA HISPANICA

INFLUENCE OF THE MICROENCAPSULATION PROCESS IN FATTY ACIDS OF SALVIA HISPANICA OIL

***O. D. López¹, R. Vicente², E. A. Rodríguez², V. L. González², A. Nogueira³, M. L. González³**

⁽¹⁾Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Universidad Técnica de Ambato (UTA), Ambato, Ecuador

⁽²⁾Centro de Productos Naturales del Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC), La Habana, Cuba

⁽³⁾Centro de Investigación y desarrollo de medicamentos (CIDEM), La Habana, Cuba.

Artículo recibido: 28/01/15

Artículo aceptado: 25/05/15

RESUMEN

En años recientes, la chía (*Salvia hispanica* L.) ha cobrado gran interés por su alto contenido del ácido graso alfa-linolénico, conocido comúnmente como omega 3, presente en el aceite de sus semillas, el cual ha sido determinado y referido en diversas publicaciones científicas. Este ácido graso y los demás insaturados presentes en el aceite de chía son fácilmente oxidables, es por eso que se hace necesario ofrecer una protección que se puede lograr con la microencapsulación mediante secado por aspersión. En el presente trabajo se realizó un estudio de microencapsulación de aceite de chía y se determinó el contenido de sus ácidos grasos (AG) antes y después del proceso de microencapsulación, demostrándose que no se afectó el contenido de ácidos grasos durante el proceso, lográndose una efectividad en la protección del aceite en las microcápsulas obtenidas.

Palabras clave: chía, ácidos grasos, insaturación, protección

ABSTRACT

In recent years, chia (*Salvia hispanica* L.) has gained great interest due to their high content of alpha-linolenic fatty acid commonly known as omega 3 present in the oil, which has been identified and referenced in various scientific publications. This fatty acid and other unsaturated present in the chia oil, are easily oxidized, that is why it is necessary to provide protection that is possible to achieve with microencapsulation by spray drying. In this paper a study of chia oil microencapsulation was conducted and its fatty acid content was determined before and after the microencapsulation process, showing that the fatty acids were not affected during the process and that effectiveness was achieved in the protection of the oil in the microcapsules obtained.

Keywords: chia, fatty acid, unsaturation, protection

* Autor de correspondencia: Orestes Darío López. E-Mail: od.lopez@uta.edu.ec

1. INTRODUCCIÓN

La chía (*Salvia hispanica* L.), es una planta de la familia *Lamiaceae*, que por su poder nutritivo constituyó un alimento básico para varias civilizaciones centroamericanas durante la etapa precolombina (Ayerza y Coates, 2005; Standley y Steyermark, 1973). El aceite de sus semillas contiene el mayor porcentaje reportado entre las fuentes vegetales de ácidos alfa-linolénicos, más conocidos comercialmente como ácidos grasos omega 3. Su contenido se refiere aproximadamente cerca de 60 % (Coates y Ayerza, 1996). En años recientes, las semillas de chía han cobrado gran importancia debido a los efectos benéficos que se han encontrado para los ácidos grasos omega 3 en la salud y la nutrición humanas. (Ayerza y Coates, 2007; Robbins, 2008; Vuksan et al., 2007).

La microencapsulación es un proceso mediante el cual ciertas sustancias bioactivas son introducidas en una matriz o sistema polimérico matricial con el objetivo de impedir su pérdida, protegerlos de la reacción con otros compuestos presentes o impedir que sufran reacciones de oxidación (Ré, 1998). Puede ser considerada como una forma de empaque a escala microscópica, en la que un material en particular puede ser cubierto de manera individual para protegerlo del ambiente (McNamee et al., 2001; Pedroza-Islas, 2002; Yoshii et al., 2003). Provee un medio de envasar, separar y almacenar materiales a escala microscópica para su liberación posterior bajo condiciones controladas (Ré, 1998).

Dentro de los métodos físicos más utilizados para microencapsular aceites, se encuentra el secado por aspersión, que es el más ampliamente utilizado para microencapsular ingredientes alimenticios, por ser el más económico (Masters, 1991; Sootitawat et al., 2004; Sootitawat et al., 2003).

El objetivo del presente trabajo consistió en realizar un estudio preliminar de microencapsulación de aceite de chía para evaluar la influencia de las diferentes variables del mismo que pueden afectar al contenido de ácidos grasos.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Para el estudio se empleó aceite de chía, obtenido en el laboratorio de Investigación y desarrollo de materias primas naturales del Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM) de La Habana (Cuba) y, como polímeros encapsulantes, maltodextrina DE 20 grado alimenticio (Roig Farma ref. 0511620) y goma arábiga libre de oxidasas (Roig Farma ref. 600452). Todos fueron pesados en una balanza técnica Mettler (USA) de 0,1 g precisión.

Se preparó una dispersión de los polímeros encapsulantes a una concentración de 30 % p/v de cada uno en agua destilada, empleando un homogeneizador Ultraturrax T25 (Ika, Alemania), con intervalo de velocidades entre 8000 y 24000 min^{-1} . Seguidamente se adicionó aceite en una concentración de 40 % (v/v) para cada caso y se mantuvo en agitación 5 min a 16000 min^{-1} . La dispersión preparada se alimentó a un secador por aspersión Minispray Dryer BÜCHI, B-191 (Suiza), con flujo de aire de secado y alimentación en paralelo, atomizador de tipo tobera de dos fluidos, empleando un flujo de aire de atomización de 600 $\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$, una temperatura de entrada del aire de 120 °C y una temperatura de salida del aire de 90 °C.

Posteriormente se determinaron los contenidos de ácidos grasos como ésteres metílicos, por el método 108.003 del *Institute for Nutraceutical Advancement* (INA, 2005), modificado según se describe a continuación. Para preparar las muestras se pesaron 150 mg del aceite o 450 mg de las microcápsulas, se adicionó 1 mL de disolución de patrón interno (ácido $\text{C}_{13:0}$, a 10 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ en metanol) y 3 mL de cloruro de acetilo al 10 % (v/v) en metanol, se cerró el tubo de ensayo y se calentó a 85 °C durante 2 h, con agitación ocasional. Se dejó enfriar, se añadieron 4 mL de hexano y 4 mL de agua destilada. Se agitó en una zaranda Agitateur (Francia) durante 15 min y se dejó reposar. Se añadieron 4 mL de etanol, se agitó manualmente durante unos segundos y se extrajo una alícuota de 3 mL de la fase orgánica hacia otro tubo de ensayos, donde se añadieron 4 mL de hexano y 4 mL de hidróxido de sodio 1 M en metanol. Se cerró y se agitó en zaranda durante 15 min. Se añadieron 4 mL de agua destilada y se agitó en zaranda por 15 min. Se dejó reposar y se extrajo una alícuota de 2 mL hacia un vial de 4 mL de capacidad, de donde se tomaron 60 μL y se diluyeron en 1,5 mL de hexano para el análisis cromatográfico. Dicho análisis se llevó a cabo en un cromatógrafo Agilent 7890 A (USA), empleando una columna capilar BPX-70 (30 m longitud x 0,25 mm diámetro interior), una temperatura inicial de 100 °C durante 4 min, incrementándose posteriormente a 10 °C $\cdot\text{min}^{-1}$ hasta alcanzar los 180 °C; seguidamente se incrementó la temperatura de 180 a 185 °C a un ritmo de 1 °C $\cdot\text{min}^{-1}$ y finalmente se incrementó la temperatura de 185 hasta 240 °C a un ritmo de 25 °C $\cdot\text{min}^{-1}$. El flujo de analito fue de 0,8 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ mientras que el flujo de hidrógeno fue de 35 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ y el flujo de aire fue de 350 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$.

Los espectros infrarrojos fueron obtenidos utilizando un espectrómetro ATR-FTIR Nicolet IR100 (Alemania), aplicando directamente las muestras de aceite y las microcápsulas.



El análisis estadístico se realizó con el software Statgraphics Centurion XV Versión 15.2.05 (StatPoint, Inc, USA).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran los resultados de la determinación del contenido de cada uno de los ácidos grasos antes y después del proceso de microencapsulación.

Como se observa, existió un elevado contenido de ácido linoleico y linolénico que se mantuvo de forma similar en las microcápsulas, por lo que se puede deducir que el proceso de microencapsulación no afectó al contenido de ácido linolénico presente en el aceite obteniéndose un comportamiento similar al obtenido para otros aceites no volátiles (López et al., 2009).

Seguidamente en la Figura 1 se muestra el análisis estadístico comparativo del contenido de ácidos grasos antes y después del proceso de microencapsulación.

Como se aprecia no existió diferencia significativa entre los contenidos de cada uno de los

componentes del aceite antes y después del proceso de microencapsulación, lo que se demuestra que el proceso de microencapsulación empleado no afectó el contenido de los componentes del aceite de chía, lo cual coincide con lo reportado para otros aceites (López et al., 2009). Esto indica la factibilidad de continuar estudios encaminados a la optimización del proceso de microencapsulación.

En la Figura 2 se muestran superpuestos los espectros infrarrojos del aceite sin microencapsular, del aceite microencapsulado y la mezcla de polímeros utilizados de forma comparativa.

La ausencia de las bandas características que mostró el espectro del aceite entre 2800 y 3000 cm^{-1} , alrededor de 1400 cm^{-1} y en 1700 cm^{-1} , correspondientes al grupo carboxilo en el espectro de la sustancia microencapsulada, al igual que en el del polímero, indicaron la eficiencia en el atrapamiento del aceite en la microcápsula. Estas bandas se observaron minimizadas, tanto en el espectro de las microcápsulas como en el de la mezcla de los polímeros, por lo que se demostró la efectividad del proceso de microencapsulación.

Tabla 1. Contenido de ácidos grasos del aceite de chía

Ácidos grasos	Aceite sin microencapsular (%) ⁽¹⁾	Microcápsulas (%) ⁽¹⁾
Palmítico C16:0	8,51 ± 0,47	9,26 ± 0,50
Palmitoleico C16:1	0,19 ± 0,02	0,22 ± 0,02
Heptadecanoico C17:0	0,25 ± 0,03	0,30 ± 0,03
Estéarico C18:0	3,58 ± 0,25	4,06 ± 0,26
Oleico C18:1	7,19 ± 0,17	7,40 ± 0,17
Linoleico C18:2	19,74 ± 0,26	19,99 ± 0,08
α-linolénico C18:3	60,19 ± 1,07	58,25 ± 1,10
Eicosanoico C20:1	0,20 ± 0,03	0,25 ± 0,04
Heneicosanoico C21:0	0,14 ± 0,06	0,25 ± 0,06

⁽¹⁾Valores promedio y desviación típica (n=3)

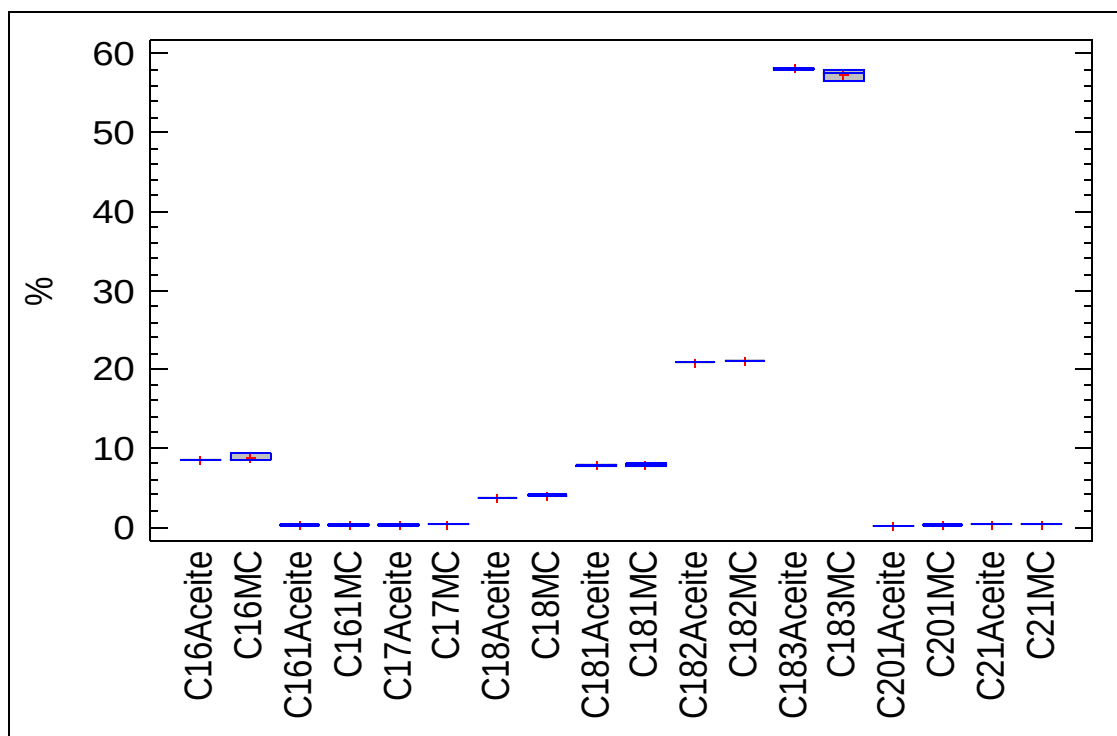


Figura 1. Análisis estadístico comparativo del contenido de ácidos grasos antes y después de la microencapsulación

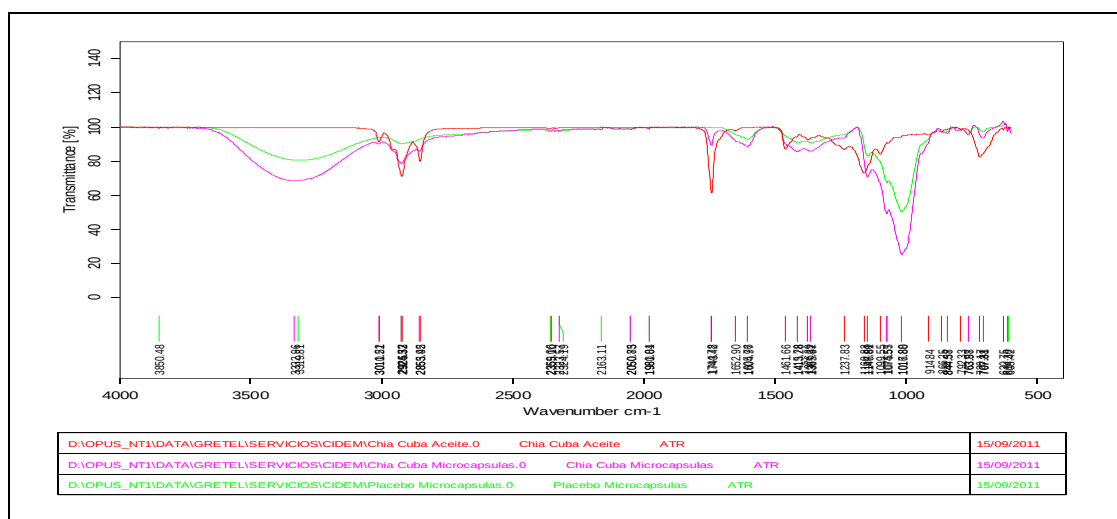


Figura 2. Espectros infrarrojos del aceite sin microencapsular (Rojo), microencapsulado (Morado) y de los polímeros (Verde).

4. CONCLUSIONES

Mediante el análisis por cromatografía gaseosa se demostró que en la microencapsulación del aceite de chía empleando como polímeros la combinación de maltodextrina y goma arábiga, se mantuvieron las proporciones de los contenidos de ácidos grasos en el aceite sin microencapsular y microencapsulado. Con la ayuda de la

espectroscopía infrarroja se demostró que el aceite se encontraba en el interior de las microcápsulas, lo que demostró a la factibilidad del proceso de microencapsulación y la posibilidad de continuar los estudios de optimización y escalado para la posterior introducción a escala industrial de este ingrediente activo.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ayerza, R., y Coates, W. (2005). *Chia: rediscovering a forgotten crop of the Aztecs*. Tucson, AZ (USA): University of Arizona Press.
- Ayerza, R., y Coates, W. (2007). Effect of dietary alpha-linolenic fatty acid derived from chia when fed as ground seed, whole seed and oil on lipid content and fatty acid composition of rat plasma. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 51, 27-34.
- Coates, W., y Ayerza, R. (1996). Production potential of chia in Northwestern Argentina. *Industrial Crops and Products*, 5, 229-233.
- INA. (2005). Method 108.003. Fatty acid content in saw palmetto by GC. <http://www.nsf.org/business/ina/methods.asp>: Institute for Nutraceutical Advancement.
- López, O. D., Márquez, T., Mayo, O., Toledo, C., y Pérez, E. (2009). Características del aceite de semillas de *Cucurbita pepo* L. microencapsulado mediante secado por aspersión con maltodextrina y goma arábiga. *Latin American Journal of Pharmacy*, 28(4), 628-632.
- Masters, K. (1991). The spray drying Handbook (pp. 329-556). New York (USA): Longman Scientific Publication.
- McNamee, B., Dolores, E., y O'Sullivan, M. (2001). Effect of Partial Replacement of Gum Arabic with Carbohydrates on Its Microencapsulation Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(7), 3385-3388.
- Pedroza-Islas, R. (2002). *Alimentos Microencapsulados: Particularidades de los procesos para la microencapsulación de alimentos para larvas de especies acuícolas*. Artículo presentado en Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Retrieved from http://www.uanl.mx/utillerias/nutricion_acuicola/VI/archivos/A26.pdf
- Ré, M. I. (1998). Microencapsulation by spray drying. *Drying Technology*, 16(6), 1195-1236.
- Robbins, W. (2008). *Domestic chia seed in HIV patients refractory to pharmacologic therapy and omega-3 supplementation alone a retrospective analysis*. Artículo presentado en AIDS 2008. XVII International AIDS Conference.
- Sootitawant, A., Yoshii, H., Furuta, T., Ohgawara, M., Forssell, P., Partanen, R., et al. (2004). Effect of Water Activity on the Release Characteristics and Oxidative Stability of d-Limonene Encapsulated by Spray Drying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(5), 1269-1276.
- Sootitawant, A., Yoshii, H., Furuta, T., Ohgawara, M., y Linko, P. (2003). Microencapsulation by Spray Drying: Influence of Emulsion Size on the Retention of Volatile Compounds. *Journal of Food Science*, 68(7), 2256-2262.
- Standley, P. C., y Steyermark, J. A. (1973). Flora of Guatemala. *Fieldiana Botany*, 24(1), 237-317.
- Vuksan, V., Whitham, D., Sieven-Piper, J. L., Jenkins, A. L., Rogovik, A. L., Bazinet, R. P., et al. (2007). Supplementation of conventional therapy with the novel grain saliva (*Salvia hispanica* L.) improves major and emerging cardiovascular risk factors in type 2 diabetes: results of a randomized controlled trial. *Diabetes Care*, 30(11), 2804-2811.
- Yoshii, H., Furuta, T., y Sootitawant, A. (2003). Microencapsulation of food flavors by spray drying. En D.R. Heldman (Ed.), *Encyclopedia of Agricultural, Food, and Biological Engineering*: Taylor & Francis.

MICROENCAPSULACION DE SABORES MEDIANTE SECADO POR ASPERSION

SPRAY DRYING MICROENCAPSULATION OF FLAVORS

***O. D. López¹, L. W. Turiño², A. Nogueira³**

⁽¹⁾Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Universidad Técnica de Ambato (UTA), Ambato, Ecuador

⁽²⁾Centro de Estudios Avanzados de Cuba (CEAC), La Habana, Cuba

⁽³⁾Centro de Investigación y desarrollo de medicamentos (CIDEM), La Habana, Cuba.

Artículo recibido: 28/01/15

Artículo aceptado: 25/05/15

RESUMEN

La microencapsulación de sustancia saborizantes mediante secado por aspersión se ha convertido en las últimas décadas en un tema de gran interés para las industrias de alimentos y farmacéutica, debido a las ventajas que ofrecen estos productos como evitar la oxidación, prevenir la evaporación del sabor en el tiempo y la posibilidad de incorporarlo a productos en polvo. El presente trabajo tuvo como objeto la microencapsulación de sabores utilizados comúnmente en las industrias de alimentos y farmacéutica así como la verificación de la efectividad del proceso de microencapsulación y que este no afecte la redispersión posterior del sabor. Como resultados se obtuvo que se alcanza un adecuado rendimiento del proceso y se demostró la efectividad del proceso de microencapsulación por espectroscopia infrarroja, además de demostró que el proceso de microencapsulación conlleva a la formación de una nanoemulsión después de la redispersión del sabor, lo cual garantiza la homogeneidad del sabor en el producto en que se emplee.

Palabras clave: nanoemulsión, tamaño de partícula, oxidación, espectroscopia IR

ABSTRACT

The flavor microencapsulation by spray drying has become in recent decades a topic of great interest in food and pharmaceutical industry, due to the advantages of these products preventing rust and evaporation of the flavor over time and making possible its incorporation into powders. The present study was aimed at the flavors microencapsulation commonly used in food and pharmaceutical industries as well as verifying the effectiveness of the microencapsulation process and that this does not affect the subsequent flavor redispersion. As a result it was found that adequate performance of the process is achieved; the effectiveness of the microencapsulation process was shown by infrared spectroscopy. In addition it showed that the microencapsulation process involved the formation of a nanoemulsion after flavor redispersion, ensuring homogeneity of the product flavor.

Keywords: nanoemulsion, particle size, oxidation, IR spectroscopy

* Autor de correspondencia: Orestes Darío López. E-Mail: od.lopez@uta.edu.ec



1. INTRODUCCIÓN

La microencapsulación de sustancias saborizantes líquidas en una matriz sólida, se ha convertido en un proceso muy atractivo en las últimas décadas, siendo en la actualidad una de las aplicaciones más importantes en la industria alimentaria y de gran interés para la farmacéutica, por su amplio uso en el enmascaramiento de los sabores desagradables de los fármacos (Bringas et al., 2011; Reineccius, 2006; Westing et al., 1988). El propósito principal de la microencapsulación es atrapar ingredientes sensibles, tales como los compuestos volátiles de los aromas, en un soporte sólido para incrementar su protección, reducir su evaporación, facilitar su manipulación y controlar su liberación durante la conservación y aplicación (Gouin, 2004; López et al., 2009).

El secado por aspersión de emulsiones es un método simple y económicamente efectivo para microencapsular aceites esenciales y otros ingredientes aromatizantes (Gibbs et al., 1999; Masters, 1991; Ré, 1998). Es por esto que el objetivo del presente trabajo fue microencapsular sustancias saborizantes usadas comúnmente en la industria alimentaria y farmacéutica.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Para el estudio se emplearon sustancias saborizantes de frutos rojos, menta, limón y naranja de (Florarom S.A. Quito, Ecuador) y como polímeros encapsulantes, maltodextrina DE 20 de grado alimenticio (Roig Farma, Terrassa, España) y goma arábica libre de oxidasas (Roig Farma, Terrassa, España). Todos fueron pesados en una balanza técnica Mettler Toledo XPE (Suiza) de 0,1 g de precisión.

Se preparó una dispersión de los polímeros encapsulantes a una concentración de 40 % p/p de cada uno en agua destilada, empleando un homogeneizador Ultraturax T25 (Ika, Staufen, Alemania), con intervalo de velocidades entre 8000

y 24000 rpm. Seguidamente, se adicionaron las sustancias saborizantes en una concentración de 20 % p/p para cada caso y se mantuvieron en agitación durante 5 min a 8000 rpm. La dispersión de cada sustancia saborizante preparada se alimentó a un secador por aspersión (Niro Atomizer Production minor, Copenhagen, Dinamarca) de 15 kg·h⁻¹ de capacidad, con flujo de aire de secado y alimentación en paralelo, atomizador de disco centrífugo a una velocidad de 24000 rpm, temperatura de entrada del aire de 120 °C y temperatura de salida del aire de 90 °C. El rendimiento se determinó a partir del balance de materiales donde se consideró que la entrada de producto fue igual que la salida, relacionando la masa de producto obtenida con la masa teórica de polímeros y la sustancia saborizante alimentada al secador y expresada en porcentaje.

El tamaño de las gotículas de sustancias saborizantes después de redispersar el producto obtenido en agua, se determinó en un analizador Shimadzu IG-1000 (Kioto, Japón). Para ello se preparó una dispersión de las partículas al 0,5 % p/v y se tomó una alícuota de 300 µL para realizar la medición, empleándose una frecuencia de 350 kHz, un voltaje de 30 V y un tiempo de 0,10 s. De los datos que ofrece el equipo se seleccionó el histograma y un resumen de los datos del análisis que incluyó la media, mediana, moda, desviación estándar y el porcentaje de distribución.

Los espectros de absorción en la banda del infrarrojo fueron obtenidos utilizando un espectrómetro ATR-FTIR, Nicolet IR100 (Alemania), con dispositivo de reflexión total atenuada.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, en la Tabla 1 se muestran los datos de los resultados del rendimiento alcanzado en el proceso de microencapsulación y los tamaños de gotículas obtenidas después de la redispersión de cada sustancia saborizante.

Tabla 1. Rendimiento y tamaño de gotículas en la redispersión de sustancias saborizantes.

Sabor	Rendimiento (%)	Tamaño (nm) ⁽¹⁾
Frutos rojos	62,0	9,20 ± 0,05
Menta	53,6	19,62 ± 0,13
Limón	60,8	21,39 ± 0,17
Naranja	61,6	31,97 ± 0,10

⁽¹⁾Expresado en promedio ± desviación típica de tres réplicas



Como se observa en la tabla anterior, en todos los casos se alcanzaron rendimientos entre 53,6 % y 62,0 %, los cuales se consideran adecuados si se tiene en cuenta que el secador utilizado, por la escala de trabajo, no está provisto de dispositivos como martillos neumáticos para ayudar a la caída del polvo de la cámara y esto hace que el rendimiento sea menor que en equipos industriales que si presentan estos dispositivos (Bringas, et al., 2011).

En cuanto al tamaño de partícula, se apreció que la estructura de la microcápsula formada, al redispersarse en agua, proporcionó la formación de una nanoemulsión de las sustancias saborizantes encapsuladas, demostrado por el hecho de hallar que los tamaños medios de gotículas se encontraron, aproximadamente, entre 9 y 32 nm de diámetro (Fig. 1). Este elevado grado de dispersión, tal como refieren López et al., (2009) tiene un gran impacto en la homogeneidad del sabor del producto en que se empleen las sustancias como saborizantes, aspecto que demuestra que el encapsulamiento mediante el método descrito de las sustancias saborizantes para protegerlas de la oxidación y la evaporación no influiría negativamente en la posterior dispersión del sabor en los productos finales en que se pudieran emplear.

En la Figura 1 se muestra la distribución de tamaños de las nanoemulsiones formadas por la redispersión de las diferentes sustancias saborizantes.

Como se aprecia en los histogramas de cada sustancia saborizante, se obtuvo en cada caso una distribución unimodal lo que demuestra la homogeneidad en la formación de las nanodispersiones de los saborizantes a partir de las microcapsulas. Los tamaños promedios se encontraron en todos los casos por debajo de 100 nm aspecto que, como ya se señaló, favorece la homogeneidad del sabor en el producto en que se empleen las microcápsulas conteniendo los saborizantes.

La Figura 2 muestra de forma comparativa los espectros en la banda del infrarrojo de las sustancias saborizantes sin microencapsular, de las microcapsulas y de la mezcla de polimeros utilizada.

Como se observa en dicha figura, la ausencia de las bandas características de cada sustancia saborizante en el espectro de los microencapsulados entre 2250 y 2500 cm^{-1} y la similitud de los espectros de los microencapsulados al de la mezcla de polimeros, indican el enmascaramiento del sabor en el interior de las microcápsulas (Reineccius, 2006). Este aspecto demuestra la efectividad del proceso de microencapsulación, lo que va a garantizar la estabilidad de las sustancias saborizantes por el efecto protector de la pared polimérica contra la oxidación y la evaporación del sabor (Reineccius, 2006).



López et al. (2015) / Alimentos, Ciencia e Investigación, 23(1) 65-69

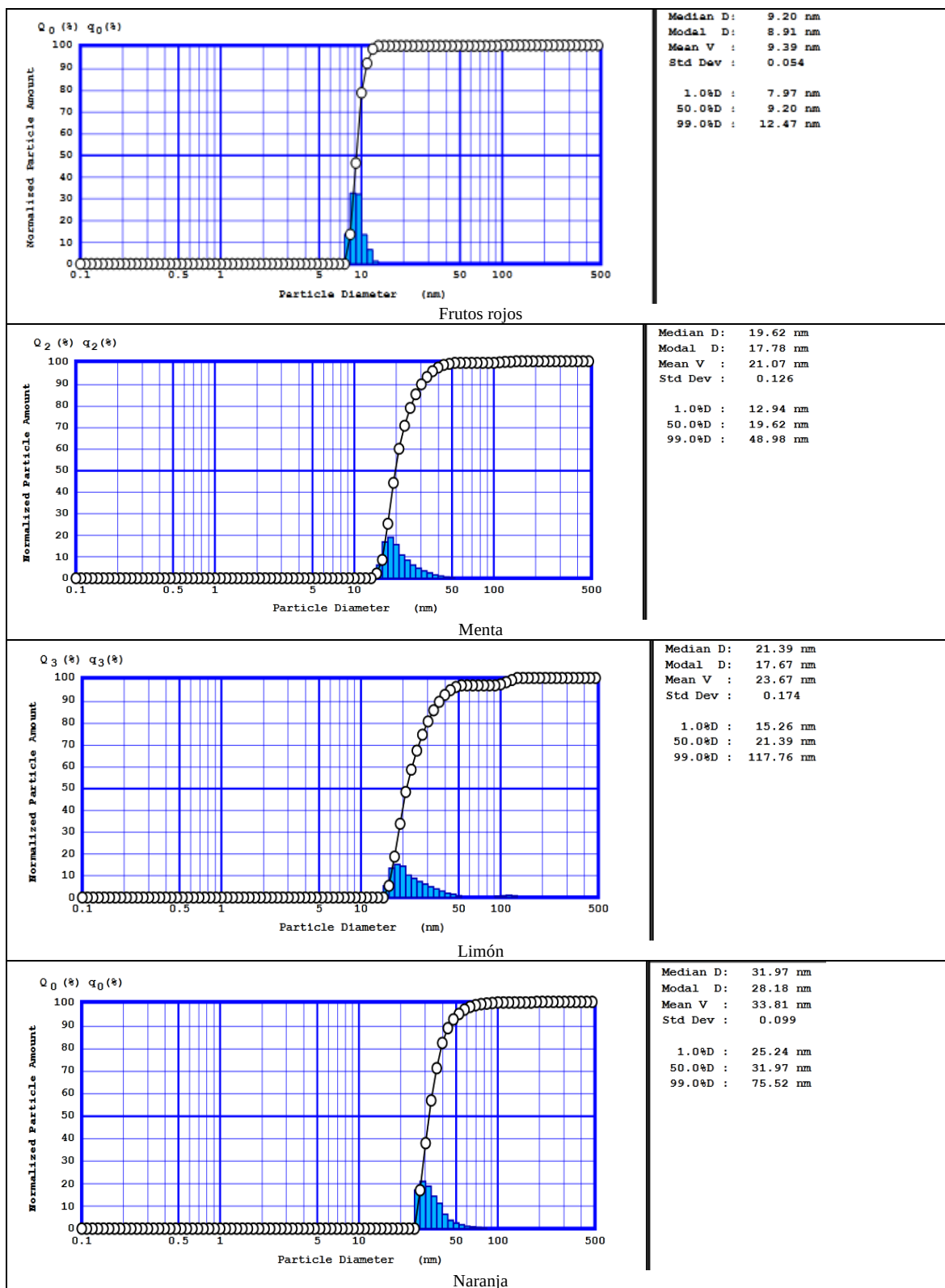


Figura 1. Distribución de tamaños de la nanoemulsión formada por la redispersión de las sustancias saborizantes.

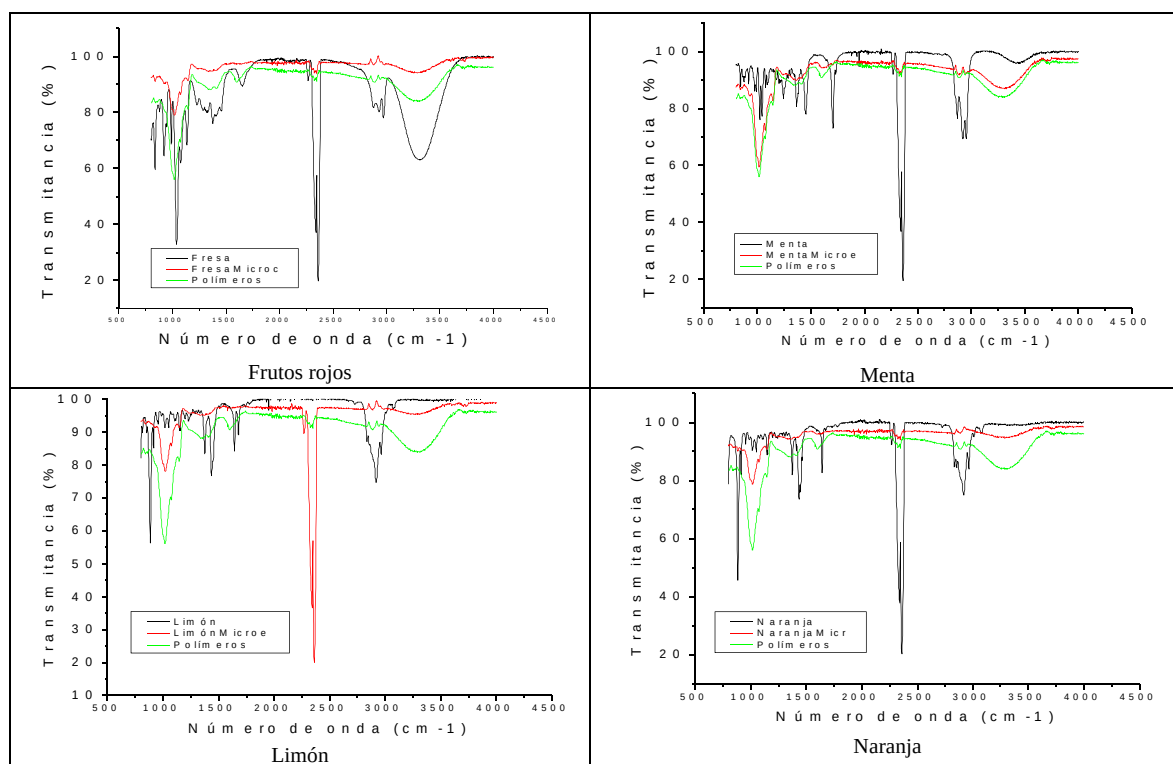


Figura 2. Espectros de absorción en la banda del infrarrojo comparativos de cada sustancia saborizante antes y después de su microencapsulación con los polímeros.

4. CONCLUSIONES

Se demostró mediante espectroscopia infrarroja que el proceso de microencapsulación de las sustancias saborizantes estudiadas garantiza la encapsulación adecuada de los sabores sin afectar su posterior redispersión. Las microcápsulas al redispersarse en agua permiten la dispersión de las sustancias saborizantes en un elevado grado, emulsionando el sabor en gotículas de tamaños entre 9 y 32 nm.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bringas, M., Expósito, I., Reineccius, G. A., López, O. D., y Pino, J. (2011). Influence of spray-dryer air temperatures on encapsulated mandarin oil. *Drying Technology*, 29(5), 520-526. doi: 10.1080/07373937.2010.513780
- Gibbs, B. F., Kermasha, S., Alli, I., y Mulligan, C. N. (1999). Encapsulation in the food industry: a review. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 50(3), 213-224.
- Gouin, S. (2004). Microencapsulation: Industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science and Technology*, 15(7-8), 330-347. doi: 10.1016/j.tifs.2003.10.005
- López, O. D., Márquez, T., Mayo, O., Toledo, C., y Pérez, E. (2009). Características del aceite de semillas de *Cucurbita pepo* L. microencapsulado mediante secado por aspersión con maltodextrina y goma arábiga. *Latin American Journal of Pharmacy*, 28(4), 628-632.
- Masters, K. (1991). The spray drying Handbook (pp. 329-556). Ciudad: Longman Scientific Publication.
- Ré, M. I. (1998). Microencapsulation by spray drying. *Drying Technology*, 16(6), 1195-1236. doi: 10.1080/07373939808917460
- Reineccius, G. A. (2006). *Flavor Chemistry and Technology*. Boca Raton, FL (USA): Taylor & Francis Group.
- Westing, L. L., Reineccius, G. A., y Caporaso, F. (1988). Shelf life of orange oil. En: Risch S.J. & Reineccius G. A. (Eds.), *Flavor Encapsulation* (pp. 110-121). Ciudad: American Chemical Society.



EFFECTO DEL TRATAMIENTO ENZIMÁTICO PECTOLÍTICO EN LA OBTENCIÓN DE VINO DE MORTIÑO

EFFECT OF A ENZYMATIC PECTOLITIC TREATMENT IN THE ELABORATION OF A MORTIÑO FRUIT WINE

J. Jácome, G. Navas¹

Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos
Universidad Técnica de Ambato (UTA), Ambato, Ecuador

Artículo recibido: 30/12/14

Artículo aceptado: 28/05/15

RESUMEN

El presente trabajo consistió en aplicar un tratamiento enzimático pectolítico con preparados enzimáticos comerciales, en la obtención de una bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) y estudiar el efecto de las enzimas en el contenido de antocianinas de la bebida. Para ello se trabajó con un diseño experimental AxBxC, siendo el factor A, la relación fruta:agua (1:3, 1:4), el factor B, las enzimas (sin enzima, Ultrazym AFPL, Pectinex Ultra SP-L) y el factor C, la levadura de panificación (Levapan fresca y Fleischmann liofilizada). Se determinó que la levadura fresca permite un mayor descenso de sólidos solubles durante la fermentación y los trasiegos. Se midió el contenido de antocianinas a través del contenido de antocianos monoméricos totales (AMT) antes y después de la maduración de la bebida, y se demostró que la enzima Pectinex Ultra SPL produce un mejor contenido de AMT antes de la maduración, seguida de la enzima Ultrazym AFPL, a diferencia de los tratamientos sin enzima. Transcurrido el tiempo de maduración el contenido de AMT se redujo, pero de igual manera tanto la enzima Pectinex Ultra SPL como Ultrazym AFPL confirieron una mayor cantidad de AMT a los vinos. En base al análisis sensorial se determinó que el mejor tratamiento es la elaborado con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca Levapan. Estas condiciones y la tecnología utilizada permitieron obtener un producto de características organolépticas atractivas.

Palabras clave: enzimas pectolíticas, mortiño, bebida alcohólica, antocianinas.

ABSTRACT

The study consists in applying a commercial pectolytic enzyme treatment with enzyme preparations to obtain a kind of wine made of Andean blueberry (*Vaccinium floribundum* Kunth) and study the effect of the enzymes in the anthocyanin content of the beverage. It was applied an experimental design AxBxC, being the factor A, the ratio fruit: water (1: 3, 1: 4), factor B, enzymes (without enzyme, Ultrazym AFPL, Pectinex Ultra SP-L) and the C factor, baker's yeast (fresh Levapan and lyophilized Fleischmann). It was determined that fresh yeast allows a greater decrease in soluble solids during fermentation, decanting and racking. Anthocyanin content was measured by the content of total monomeric anthocyanins (AMT) before and after maturation of the beverage, and it was demonstrated that the enzyme Pectinex Ultra SPL produces better content of AMT before maturation, followed by AFPL Ultrazym enzyme, unlike without enzyme treatments. After maturation time AMT content was reduced, but equally both enzyme Pectinex Ultra SPL as Ultrazym AFPL possess greater amount of AMT. Based on the sensory analysis was determined that the best treatment was made with the ratio 1: 4 (fruit: water), enzyme Ultrazym Levapan AFPL and fresh yeast. These conditions and the technology used allowed obtaining a product with attractive organoleptic characteristics.

Keywords: pectolytic enzymes, Andean blueberry, alcoholic beverage, anthocyanins.

¹ Autor de correspondencia: Gladys Navas Miño. E-mail: glacenam@hotmail.com

1. INTRODUCCIÓN

El mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth), es una planta de la familia *Ericaceae*, nativa de los páramos ecuatorianos (Loján, 2003). Es considerada endémica y su uso se remonta desde tiempo inmemoriales, especialmente para la elaboración de la tradicional colada morada, bebida consumida en Ecuador en el Día de los Difuntos (Morales, 2002). El fruto al ser de color negro evidencia una alta concentración de antocianidinas como polifenoles, que evidencian una importante capacidad antioxidante (Vasco, 2009). Las antocianidinas y antocianócidos son una familia fitoquímica con gran variabilidad presentes en flores, frutos y otros órganos expuestos a la luz solar.

En la familia *Ericaceae*, el mortiño presenta un pariente cercano que es el arándano (*Vaccinium myrtillus* L.) cuya composición química presenta concentraciones de antocianidinas y antocianósidos de hasta el 0,5 % (Alonso, 2004).

Las antocianinas se encuentran, particularmente, en las vacuolas presentes en la piel de las bayas y la pulpa, donde se pueden acumular en unas vesículas esféricas denominadas “antocianoplastos” o “inclusiones antocianínicas vacuolares” (Markham et al., 2000). Al comienzo del proceso de vinificación, los antocianos son extraídos de los hollejos por la ruptura de las células y las vacuolas, pasando rápidamente al mosto (Martin y De Ambrosini,

2008). La extracción de los compuestos fenólicos va a depender, debido a su localización, de la degradación de la pared celular. Esto supone que el uso de enzimas pectolíticas que degraden la pared celular de la piel de la fruta, podría favorecer la solubilización de antocianos y taninos (Romero, 2008).

Por lo tanto, el objetivo del presente estudio es aplicar un tratamiento enzimático con enzimas pectolíticas (Pectinex Ultra SP-L y Ultrazym AFPL) en la elaboración de una bebida tipo vino de mortiño y determinar su efecto en el contenido de antocianinas y calidad sensorial.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un diseño experimental AxBxC siendo el factor A la relación fruta:agua (1:3 y 1:4); el factor B, el tratamiento enzimático pectolítico empleado (sin enzima, Ultrazym AFPL y Pectinex Ultra SP-L); el factor C, la levadura empleada en la vinificación (levadura fresca Levapan y levadura liofilizada Fleischmann).

Se llevaron a cabo dos réplicas, dando como resultado 24 tratamientos de estudio. El proceso para obtener la bebida tipo vino de mortiño se muestra en la Figura 1 y la simbología de los tratamientos en la Tabla 1.

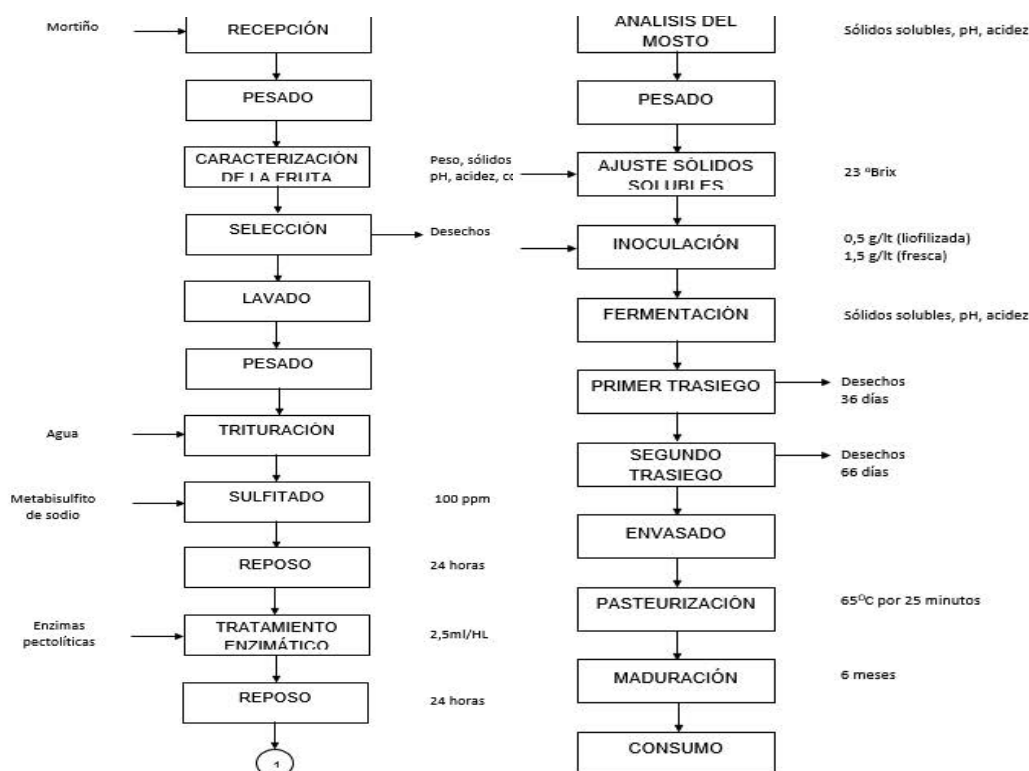


Figura 1. Diagrama de flujo para la elaboración de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)



Tabla 1. Descripción de la simbología de los tratamientos de acuerdo al diseño experimental

Tratamiento	Descripción
$a_0b_0c_0$	Fruta : agua (1:3), sin enzima, levadura fresca
$a_0b_0c_1$	Fruta : agua (1:3), sin enzima, levadura liofilizada
$a_0b_1c_0$	Fruta : agua (1:3), Ultrazym AFPL, levadura fresca
$a_0b_1c_1$	Fruta : agua (1:3), Ultrazym AFPL, levadura liofilizada
$a_0b_2c_0$	Fruta : agua (1:3), Pectinex Ultra SP-L, levadura fresca
$a_0b_2c_1$	Fruta : agua (1:3), Pectinex Ultra SP-L, levadura liofilizada
$a_1b_0c_0$	Fruta : agua (1:4), sin enzima, levadura fresca
$a_1b_0c_1$	Fruta : agua (1:4), sin enzima, levadura liofilizada
$a_1b_1c_0$	Fruta : agua (1:4), Ultrazym AFPL, levadura fresca
$a_1b_1c_1$	Fruta : agua (1:4), Ultrazym AFPL, levadura liofilizada
$a_1b_2c_0$	Fruta : agua (1:4), Pectinex Ultra SP-L, levadura fresca
$a_1b_2c_1$	Fruta : agua (1:4), Pectinex Ultra SP-L, levadura liofilizada

Durante la fermentación y los trasiegos de la bebida se determinaron análisis fisicoquímicos de control de sólidos solubles, pH y acidez. Para ello se utilizó un refractómetro Atago α H (ATAGO Co. Ltd., USA) para determinar los sólidos solubles, un pH-metro digital Hanna pHep (HI 98107; HANNA Instruments, USA) para el pH. La acidez se estableció mediante titulación tomando 1 ml de la muestra y 9 ml de agua destilada, titulando con una solución de NaOH 0,1 N; para la valoración se consideró al ácido cítrico como ácido dominante (factor equivalente= 0,64)

Para determinar el contenido de Antocianos Monoméricos Totales (AMT) se tomaron medidas espectrofotométricas con un espectrofotómetro Genesys 20 Spectronic (THERMO Scientific, USA).

Las muestras correspondieron a una solución del vino (factor de dilución 1:50) con solución tampón de cloruro de potasio 0,025 M a pH 1,0 y solución de acetato de sodio 0,4 M a pH 4,5.

Se midió la absorbancia de cada dilución (pH 1,0 y pH 4,5) a una longitud de onda de 520 nm entre 15 minutos y 1 hora tras la preparación de las disoluciones. Se calculó la absorbancia de la muestra diluida, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$A = A_{520}(pH1,0) - A_{520}(pH4,5) \quad \text{Ec. 1}$$

Donde:

A: absorbancia de la muestra diluida (adimensional)
 A_{520} (pH 1,0): absorbancia de la muestra diluida, medida a pH 1,0 (adimensional);
 A_{520} (pH 4,5): absorbancia de la muestra diluida, medida a pH 4,5 (adimensional);

A continuación se calculó la concentración en antocianos monoméricos totales de la muestra con la Ecuación 2:

$$AMT = \frac{(A \times FD \times PM \times 1000)}{\epsilon \times 1} \quad \text{Ec. 2}$$

Donde:

AMT: es el contenido en antocianos monoméricos totales ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$);

A: es la absorbancia de la muestra diluida (adimensional)

FD es el factor de dilución (adimensional);

PM: es el peso molecular ($\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$);

ϵ : es el coeficiente de absorbancia molar del antociano de referencia (adimensional).

En el caso del mortiño, los resultados se expresaron como $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de 3-monoglucósido de cianidina (Cy-3-glu), por ser éste, el antociano mayoritario. Los valores a utilizar en la Ec. 2 fueron: PM = 449,2 $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ y ϵ = 26900 (Giusti y Wrolstad, 2001).

Finalmente, el análisis sensorial correspondió a una prueba de escala hedónica de 7 puntos (AENOR, 2006). Se empleó un diseño de bloques balanceado con la finalidad de distribuir cierto número de muestras a distintos catadores, de manera que se tuvieron 12 muestras de vinos, las cuales fueron distribuidas en un número de 4 a cada catador. El número de catadores utilizado fue de 13 personas repartidas en 4 réplicas, obteniéndose 16 respuestas por vino. El grupo de catadores semi-entrenados empleados se obtuvo de la Facultad de Ciencia e Ingeniería de los Alimentos, el mismo que evaluó: color, aroma, acidez, astringencia y apreciación global, utilizando una ficha de cata.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Periodo fermentativo

Existió una disminución de los sólidos solubles a lo largo del periodo fermentativo de los mostos de mortiño, alcanzando valores entre 7,4 y 8,0 °Brix partiendo de un mosto ajustado con sacarosa a 23 °Brix. En las etapas iniciales de la fermentación, el consumo de sólidos solubles fue más rápido, el cual empezó después a estabilizarse, alcanzando valores casi constantes al final del proceso. Siguiendo el método descrito en González (2012), el proceso fermentativo se consideró detenido cuando se detuvo la producción de CO₂, siendo confirmado por la obtención de tres lecturas iguales o inferiores a 10 °Brix (Ribereau-Gayon, 1992). De acuerdo a este criterio se calculó el tiempo de fermentación el cual varió entre 34 y 39 días. Se observaron tiempos de fermentación menores con la utilización de levaduras vínicas a temperaturas controladas, en

un intervalo de 24,8 hasta 27,4 °C, lo que permitió fermentaciones más regulares y rápidas (Córdova, 2010), pero en el caso de la bebida tipo vino de mortiño se utilizó levadura de panificación a temperatura ambiente la cual se mantuvo entre 16 y 20 °C.

El análisis de varianza para sólidos solubles durante la etapa de fermentación mostró, con un 95% de nivel de confianza, que existieron diferencias significativas en cuanto al factor C (Levadura). Al realizar la prueba de Diferencia Mínima Significativa (LSD) se observó que la levadura fresca presentó un mayor consumo de azúcares con un promedio de 7,69 °Brix, a diferencia de la levadura liofilizada que alcanzó una media de 7,89 °Brix.

Los valores de pH fueron más altos al final de la fermentación, siendo inicialmente 2,53 y 2,88, llegando hasta valores de pH desde 2,80 hasta 3,09 (Figura 2)

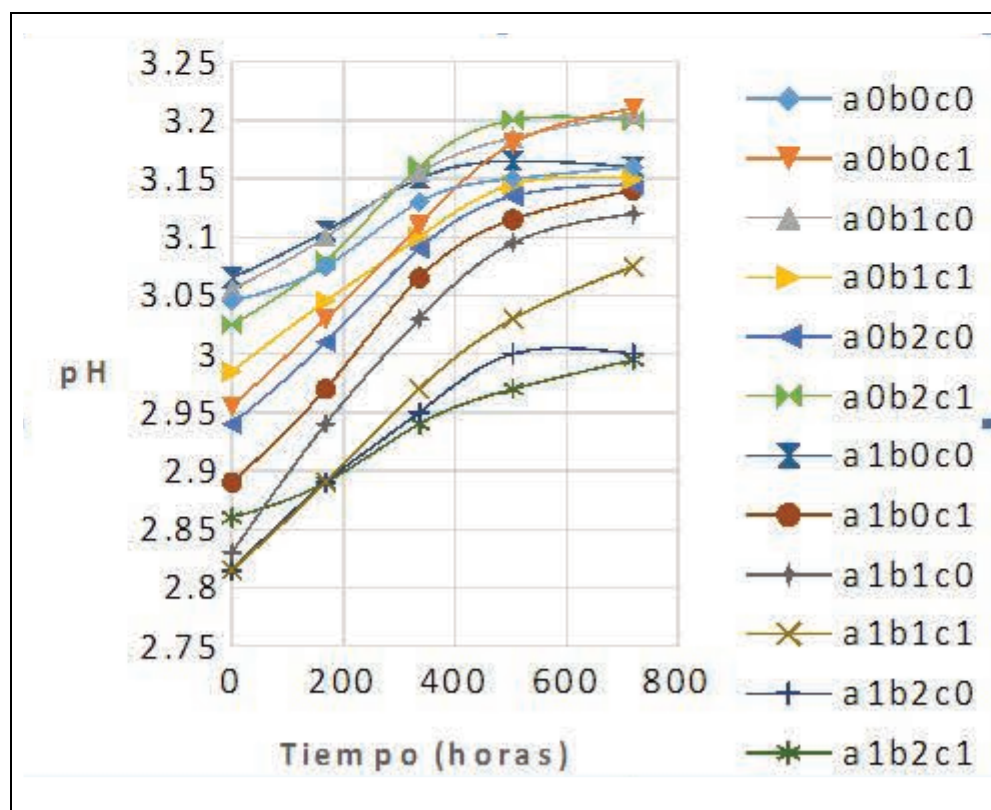


Figura 2. Evolución del pH durante los trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño



Según Boulton (2002), durante la fermentación alcohólica, los sólidos se están extrayendo de forma continua al estar en contacto con el mosto, dando lugar a la subida de pH debido a la transferencia de componentes alcalinos como potasio, sodio, calcio o magnesio. El análisis de varianza mostró, con un 95% de nivel de confianza, que el factor A (relación fruta: agua) influyó de manera significativa en el pH del vino; lo contrario ocurrió con los demás factores estudiados (enzimas y levaduras). La prueba (LSD) para pH por relación fruta:agua, demostró que los vinos elaborados con la relación 1:3 (fruta:agua) tuvieron un valor de pH mayor, con una media de 3,00, mientras que los que fueron elaborados con la relación 1:4 (fruta:agua) presentaron pH promedio de 2,88. Como ya se ha mencionado, el contenido de sólidos extraídos mientras fermenta el mosto influye en el pH, lo que explica que mientras más diluida se encuentre la fruta en el mosto, menor sea el valor de pH.

Los valores de acidez, expresada como porcentaje de ácido cítrico, registrados durante la fermentación de la bebida tipo vino de mortiño mostraron variación para todos los tratamientos, presentando una disminución durante el tiempo de fermentación. Se obtuvieron valores desde 0,6-0,79 % de ácido cítrico al inicio del proceso fermentativo, hasta 0,50-0,58 % al final, pudiéndose apreciar la disminución de la acidez en cada uno de los tratamientos. El análisis de varianza para acidez durante la etapa de fermentación de la bebida tipo vino de mortiño, utilizando un nivel de confianza del 95 %, demostró que no hubo diferencia significativa entre los factores de estudio.

3.2 Periodo de trasiegos

Durante el periodo de trasiegos, no hubo un descenso de sólidos solubles apreciable, siendo el mayor descenso de 0,2 °Brix. Este cambio, el mismo que no se presentó en todos los tratamientos, se debió a que en el mosto existían todavía levaduras residuales que pudieron realizar fermentación.

En la

Figura 2 se presenta el comportamiento del pH durante los trasiegos de la bebida tipo vino de

mortiño. Durante este tiempo se observó un ligero incremento en el pH en cada uno de los tratamientos. El pH alcanzó valores que fueron desde 2,98 a 3,23. Como indica Chatonnet (2005), existe una evolución de los parámetros del equilibrio ácido-base de un vino durante su elaboración desde el encubado, pasando por el trasiego y hasta el fin de la crianza, procedente fundamentalmente de la degradación del ácido cítrico, que finalmente provocan un aumento del pH de 0,1 a 0,2 unidades o a veces más. El análisis de varianza para pH durante los trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño mostró, con un nivel de confianza del 95 %, que tanto el factor A (Relación fruta:agua) como el factor B (Enzimas) tuvieron un efecto significativo en el pH de la bebida durante los trasiegos. De acuerdo a la prueba LSD por relación fruta:agua, se demuestra que los vinos elaborados con la relación 1:3 (fruta:agua) tuvieron un valor de pH mayor, con una media de 3,18, mientras que los que fueron elaborados con la relación 1:4 (fruta:agua) presentaron una media de pH de 3,08. Así mismo, se demostró que tanto los tratamientos en los que no se aplicaron enzimas como el que se aplicó la enzima Ultrazym AFPL, presentaron un mayor valor de pH, con una media de 3,16 y 3,14 respectivamente, mientras que el menor valor de pH lo presentaron los tratamientos con enzimas Pectinex Ultra SPL, con una media de 3,09.

Durante el periodo de trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño, el porcentaje de acidez como porcentaje de ácido cítrico descendió constantemente. Todas las circunstancias que favorecen el contacto de las partes sólidas del mosto propiciaron la neutralización de los ácidos por las materias minerales. De la misma forma, en el trasiego todavía se encontraron pequeñas partículas en suspensión que con el tiempo precipitaron.

3.3 Antocianos Monoméricos Totales (AMT)

En la Figura 3, se representa el contenido de AMT ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) de cada uno de los tratamientos, tanto antes como después de la maduración.

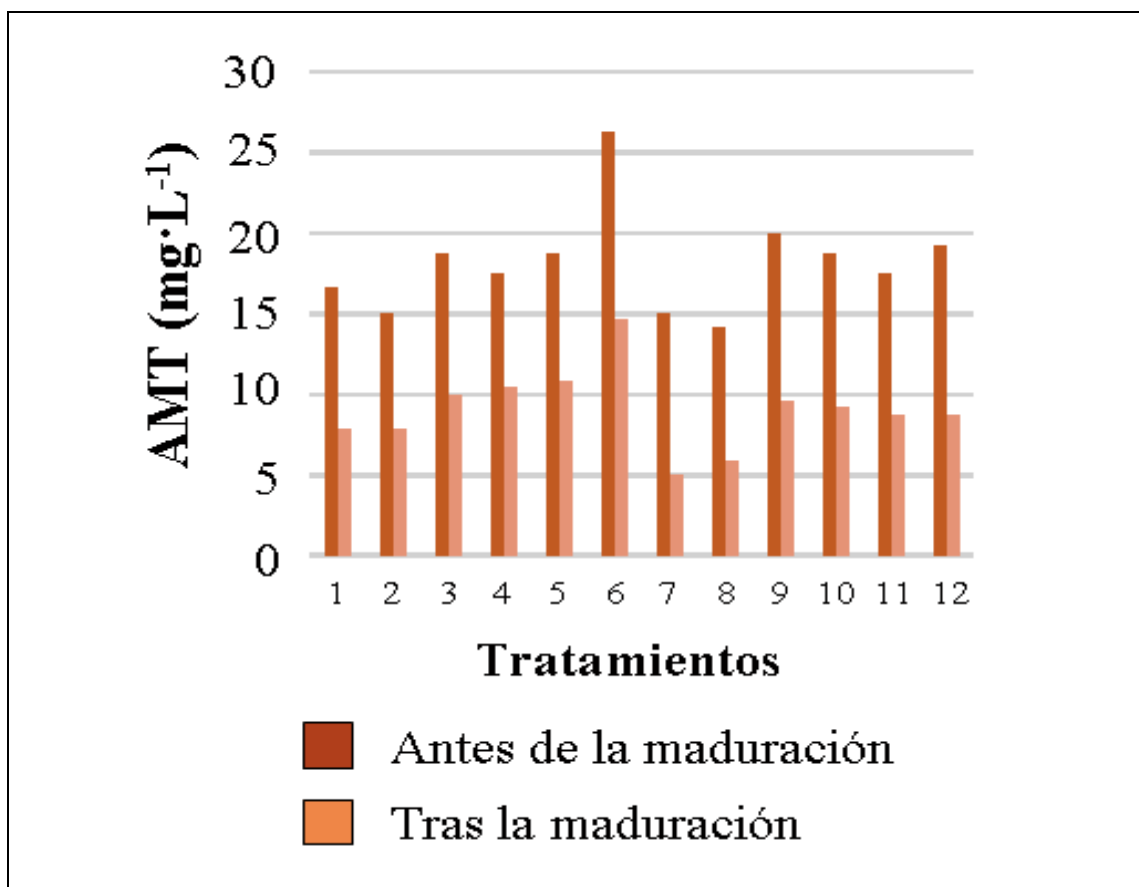


Figura 3. Comparación de los antocianos monoméricos totales (AMT) (mg·L⁻¹) de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) al inicio y al final de la maduración

Se puede observar que en todos los tratamientos existió un decremento del contenido de antocianinas después del periodo de maduración. Durante la conservación y envejecimiento de vinos rojos, la concentración de antocianos es la responsable del color del vino. Posteriormente, las disminuciones que se producen se deben a las reacciones de los antocianos con otros compuestos fenólicos. Se piensa que es debido a este fenómeno, por el que se produce el cambio del matiz rojo de los vinos tintos jóvenes hacia la tonalidad castaña de los vinos tintos maduros (Atanasova et al., 2002). Además, las antocianinas pueden combinarse con determinados metabolitos de las levaduras, tales como el etanol y el ácido pirúvico, apareciendo compuestos poliméricos muy estables, que adicionalmente provocan sensaciones gustativas de mayor suavidad y cuerpo (Hidalgo, 2003).

El análisis de varianza para AMT al iniciar la etapa de maduración de la bebida tipo vino de mortiño, demostró, con un 95% de nivel de confianza, que tanto el factor A (relación fruta:agua) como el factor B (Tipo de Enzima) influyeron de manera significativa en el contenido de antocianinas. La

prueba LSD para AMT por relación fruta:agua y enzimas respectivamente, aseguró que la relación 1:3 (fruta:agua) produjo un mayor contenido de AMT con una media de 18,85 mg·L⁻¹, a diferencia de la relación 1:4 (agua:fruta) con 17,46 mg·L⁻¹, quedando demostrado que mientras más agua se utiliza para realizar el mosto, menor es el contenido de AMT en el producto.

La prueba LSD para AMT por enzimas, demostró que la enzima Pectinex Ultra SPL produjo un mejor contenido de AMT con una media de 20,46 mg·L⁻¹, seguida de la enzima Ultrazym AFPL con 18,79 mg·L⁻¹. Finalmente, la media para los tratamientos sin enzima fue de 15,23 mg·L⁻¹, demostrando que el tratamiento enzimático al mosto de mortiño, logró incrementar el contenido de antocianinas en la bebida tipo vino de mortiño.

Algo similar ocurrió considerando el contenido de AMT de la bebida tipo vino de mortiño después de la maduración. El análisis de varianza para contenido de AMT al finalizar maduración, a un 95% de nivel de confianza, manifestó de nuevo que, tanto la relación fruta:agua como el tipo de enzimas, produjeron diferencias significativas en el contenido de antocianinas. Una vez más, la dilución



influyó en el contenido de antocianinas. La prueba LSD para AMT por enzimas, a un 95% de nivel de confianza determinó que el uso de enzimas Pectinex Ultra SPL y Ultrazym AFPL permitieron obtener valores más altos en el contenido de AMT, presentando una media de 10,75 y 9,81 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente, a diferencia de los tratamientos sin acción enzimática con una media de 6,67 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en el contenido de AMT.

3.4 Análisis Sensorial

El análisis de varianza determinó que todos los tratamientos presentaron diferencias significativas, con un 95% de nivel de confianza, para cada uno de los atributos evaluados.

Al realizar la prueba de Diferencia Mínima Significativa (LSD) para color, se determinó que el tratamiento testigo (vino comercial) resultó el mejor, con una valoración promedio de 6,32. El

mejor tratamiento estudiado resultó ser el elaborado con la relación 1:3 (fruta:agua), Pectinex Ultra SP-L y levadura fresca.

Considerando el atributo acidez, se estableció que el vino elaborado con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca y el elaborado con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Pectinex Ultra SPL y levadura fresca fueron mejor puntuados con una media de 6,23 y 6,12 respectivamente.

La prueba LSD para aroma, astringencia y apreciación global indicó la preferencia de los catadores hacia el vino elaborado con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca.

La Figura 4 representa el perfil sensorial de cada uno de los tratamientos de la bebida tipo vino de mortiño.

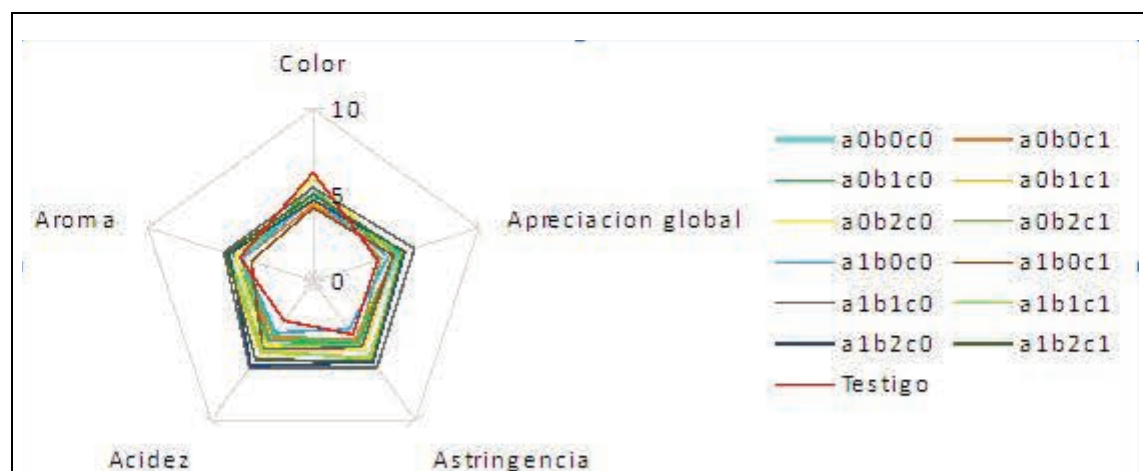


Figura 4. Perfil sensorial de los tratamientos de la bebida tipo vino de mortiño para los atributos evaluados en el análisis sensorial

Según Saltos (2010), esta técnica implica reconocer los atributos sensoriales, de tal modo que los ejes de la estrella coincidan con ellos. La figura permite identificar de manera inmediata el mejor tratamiento ya que resume el análisis sensorial. En ella se puede observar que en los atributos de aroma, acidez, astringencia y apreciación global, el vino elaborado con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca tuvo una mejor puntuación promedio de todos los catadores. En cuanto al color, la mejor puntuación promedio fue obtenida por el tratamiento testigo, en el que se usó un vino comercial, seguido por los vinos elaborados con la relación 1:3 (fruta:agua), enzima Pectinex Ultra SPL y levadura fresca y liofilizada respectivamente. Los niveles de los primeros dos factores fueron los que obtuvieron el mejor

contenido de AMT, con lo que se comprueba la relación que existe entre el contenido de antocianinas y el color del vino.

4. CONCLUSIONES

El uso de enzimas pectolíticas Pectinex ultra SP-L y Ultrazym AFPL incrementó el contenido de antocianinas en la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) medido como contenido de antocianos monoméricos totales (AMT).

La enzima Pectinex Ultra SPL produjo un mayor contenido de AMT antes de la maduración, seguida de la enzima Ultrazym AFPL y, finalmente, de los tratamientos sin enzima que poseyeron el valor más

bajo. Transcurrido el tiempo de maduración, el contenido de AMT se redujo en todos los casos pero siguió siendo superior en los tratamientos tratados enzimáticamente.

El mejor tratamiento en base a los atributos sensoriales fue el elaborado con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca Levapan. Estas condiciones y la tecnología utilizada permitieron obtener un producto de características organolépticas atractivas, color y aroma característico de la fruta, acidez y astringencia equilibradas, con apreciación global superior al vino tradicional de uva.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AENOR. (2006). Norma Española. UNE-ISO 4121:2006. Análisis sensorial. Directrices para la utilización de escalas de respuestas cuantitativas. (pp. 15): Comité técnico AEN/CTN 87 Análisis sensorial.
- Alonso, J. (2004). *Tratado de Fitofármacos y Nutracéuticos* (1ª ed.). Rosario (Argentina): Corpus Libros.
- Atanasova, V., Fulcrand, H., Cheynier, V., y Moutounet, M. (2002). Effect of oxygenation on polyphenol changes occurring in the course of wine-making. *Analytica Chimica Acta*, 458, 15-27.
- Boulton, R. B. (2002). *Teoría y práctica de la elaboración del vino*. Zaragoza (España): Ed. Acribia.
- Córdova, I. (2010). *Comparación del comportamiento fermentativo de levadura de panificación y levaduras vínicas (Uvaferm CM, Lalvin EC 1118, Lalvin QA23) y sus efectos sobre la calidad de vinos de mora (Rubus glaucus Benth.)*. BSc. Thesis, Universidad Técnica de Ambato, Ambato (Ecuador).
- Chatonnet, P. (2005). Informe Técnico. Gestión de pH en el vino de calidad. (pp. 9-20). Madrid (España): Fundación para la cultura del vino.
- Giusti, M., y Wrolstad, R. (2001). *Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy* (1ª ed.). New York (USA): John Wiley & Sons, Inc.
- González, X. (2012). *Desarrollo de una tecnología para elaborar una bebida alcohólica a partir de la grosella blanca (Phyllanthus acidus)*. BSc. Thesis, Universidad Técnica de Ambato, Ambato (Ecuador).
- Hidalgo, J. (2003). *Tratado de enología*. Madrid (España): Ediciones Mundi-Prensa.
- Loján, L. (2003). El verdor de los andes ecuatorianos: realidades y promesas. *Proyecto Desarrollo Forestal Participativo en los Andes* (pp. 296).
- Markham, K. R., Gould, K. S., Winefield, C. S., Mitchell, K. A., Bloor, S. J., y Boase, M. R. (2000). Anthocyanic vacuolar inclusions - their nature and significance in flower coloration. *Phytochemistry*, 55, 327-336.
- Martin, M., y De Ambrosini, M. (2008). *Extracto pectinolítico producido por Bacillus sp. SC Ch 15 y su aplicación en la extracción de pigmentos y polifenoles totales de la uva*. Paper presented at the Congreso Latinoamericano de Ingeniería y ciencias Aplicadas (CLICAP), Mendoza (Argentina). <http://www.fcailuncuyo.edu.ar/upload/31atc-martin-fcai.pdf>
- Morales, A. (2002). *Frutoterapia, nutrición y salud: el poder terapéutico de las frutas, hortalizas, verduras, cereales, legumbres y plantas*. Madrid (España): Edaf-Plus Vitae.
- Ribereau-Gayon, J. (1992). *Tratado de enología: ciencias y técnicas del vino. Vinificación, transformación del vino*. (Vol. 3): Hemisferio Sur.
- Romero, I. (2008). *Extracción de compuestos fenólicos de la uva al vino. Papel de los enzimas de maceración*. PhD Thesis, Universidad de Murcia, Murcia (España).
- Saltos, A. (2010). *Sensometría: análisis en el desarrollo de alimentos procesados*. Riobamba (Ecuador): Editorial Pedagógica Freire.



Alimentos, Ciencia e Investigación. 2015, 23(1) 78-85

EFFECTO DEL LAVADO CON ACEITE ESENCIAL DE CANELA EN LA CALIDAD DE HORTALIZAS TROCEADAS

EFFECT OF CINNAMON ESSENTIAL OIL WASHING ON THE QUALITY OF FRESH-CUT VEGETABLES

***A. Jinde, X. Mariño, M. Álvarez, M. Silva**

Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos,
Universidad Técnica de Ambato (UTA), Ambato, Ecuador

Artículo recibido: 30/12/2015

Artículo aceptado: 30/05/15

RESUMEN

En el presente trabajo se estudió el efecto de la aplicación de diferentes condiciones de lavado de hortalizas troceadas tratadas con aceite esencial de canela como desinfectante. Se empleó un diseño experimental AxB, siendo A el factor temperatura ($a_0=40\text{ }^{\circ}\text{C}$; $a_1=45\text{ }^{\circ}\text{C}$; $a_2=50\text{ }^{\circ}\text{C}$) y B el tiempo ($b_0=15\text{ minutos}$; $b_1=30\text{ minutos}$). Se evaluaron los cambios en las propiedades químicas y microbiológicas de cuatro tipos de hortalizas troceadas, col repollo, col lombarda, lechuga iceberg y espinaca, durante el almacenamiento refrigerado. El porcentaje de disminución de carga microbiana en los diferentes tratamientos de las hortalizas con respecto a las hortalizas recién cosechadas sobrepasó el 50 %, llegando algunos casos al 100 %, valores que dependieron del microorganismo analizado. El mejor tratamiento en lechuga, col repollo y espinaca fue un lavado a $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 15 minutos y en col lombarda a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 15 minutos. Se determinó el tiempo de vida útil en las hortalizas procesadas sometidas a los tratamientos seleccionados, tras ser empacadas y almacenadas en refrigeración, considerando los límites legales permitidos para aerobios mesófilos y coliformes totales, estimándose un tiempo de vida útil de 4 días para lechuga, col lombarda y espinaca y de 6 días para col de repollo.

Palabras clave: col repollo, col lombarda, lechuga iceberg, espinaca, temperatura y tiempo de lavado, vida útil.

ABSTRACT

The present work was aimed to study the effect of applying different temperatures and drying times in fresh-cut vegetables previously washed with cinnamon essential oil as disinfectant. An experimental design AxB was used, being A the temperature factor ($a_0=40\text{ }^{\circ}\text{C}$; $a_1=45\text{ }^{\circ}\text{C}$; $a_2=50\text{ }^{\circ}\text{C}$) and B the time factor ($b_0=15\text{ min}$ and $b_1=30\text{ min}$). The experimental responses were changes of chemical and microbiological properties of four types of fresh-cut vegetables: white cabbage, red cabbage, iceberg lettuce and spinach. Decrease in microbial load in the processed vegetables related to freshly harvested vegetables exceeded 50 %, even reaching 100 %, depending on the tested microorganism. The best treatment for lettuce, white cabbage and spinach was washing and drying at $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 15 minutes. In the case of red cabbage best treatment was a washing and drying at $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 15 minutes. The shelf life of the processed vegetables after the better treatment were applied, considering the allowable limits of mesophilic aerobic and total coliforms, was estimated in 4 days for lettuce, red cabbage and spinach, and 6 days for white cabbage, always stored under refrigeration.

Keywords: white cabbage, red cabbage, iceberg lettuce, spinach, temperature and drying time, shelf life

* Autor de correspondencia: Alexandra Jinde. E-Mail: jinde.alexandra@gmail.com.

1. INTRODUCCIÓN

Existe la necesidad de desarrollar tecnologías de conservación de hortalizas con nuevas alternativas de procesamiento, para el consumo de alimentos saludables libres de conservantes químicos y que mantengan sus características naturales.

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) han sido catalogadas por expertos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) como el problema de salud pública más extendido en el mundo contemporáneo y han sido una causa importante del descenso de la productividad económica mundial (Royo-Bordonaba, 2007). Esta organización estimó que, sólo en el año 2005, murieron aproximadamente 1,8 millones de personas debido a enfermedad diarreica, asociada a la ingesta de agua o alimentos contaminados.

El cultivo de hortalizas es una actividad económica importante en la provincia de Tungurahua, donde numerosas familias dependen de esta actividad para su subsistencia. Sin embargo, en su mayoría son vendidas en mercados a nivel nacional sin ningún valor agregado.

Las hortalizas mínimamente procesadas y empacadas son refrigeradas durante su transporte hacia los comisariatos, donde son mantenidas a la temperatura de refrigeración. Sin embargo, en mercados y tiendas las hortalizas enteras suelen comercializarse exhibidas en perchas que se encuentran al ambiente sin ninguna protección (Lightfoot y Maier, 2002).

El aceite esencial de canela (*Cinnamomum verum* J. Presl.) contiene entre el 75-85% de eugenol, un componente con actividad antibacteriana natural y un 5% de cinamaldehído, que contribuye con un carácter aromático y características antimicrobianas, que rompen las paredes celulares de los microorganismos, interfiriendo en su metabolismo (González, 2010; Mendoza, 2005).

A temperaturas superiores a 40 °C empieza a disminuir la tasa de crecimiento de los microorganismos hasta llegar a su inactivación (Barrantes y Achí, 2011; Benintende et al., 2009). Cuando se someten las hortalizas a temperaturas entre 40 a 50 °C por un tiempo determinado, ocurre una eliminación del agua superficial que puede ayudar a controlar el crecimiento microbiano, evitando una parte importante de las causas que generan los cambios en las propiedades físico-químicas de las hortalizas.

El objetivo del presente estudio fue la determinación de la combinación óptima de temperatura y tiempo y su efecto coadyuvante con el empleo de las sustancias higienizantes contenidas en el aceite esencial de canela, en orden a maximizar la vida útil de varias hortalizas de amplio consumo como son la col repollo, la col

lombarda, la lechuga iceberg y la espinaca, en su formato como productos mínimamente procesados.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materia prima

Se empleó col repollo (*Brassica oleracea* var. *capitata* cv. *bronco*), col lombarda (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *rubra*), lechuga iceberg (*Lactuca sativa* L. var. *capitata*) y espinaca (*Spinacia oleracea* L.) cultivadas en los sectores de Quillán Bajo y Quillán Alto, parroquia Izamba, provincia de Tungurahua (Ecuador).

El aceite esencial de canela (*Cinnamomum verum* J. Presl.) fue adquirido a la empresa Isabrubotanik S.A., localizada en Ambato, Ecuador.

2.2 Procesado de las hortalizas

Las hortalizas fueron seleccionadas con características físicas adecuadas (libres de defectos) y deshojadas manualmente, eliminando las hojas manchadas o con quemaduras provocadas por el sol. Posteriormente, se realizó un lavado con agua previamente hervida y enfriada a 4 °C, para eliminar las impurezas. Las hojas fueron cortadas a un tamaño de 5 a 7 cm de longitud y de 0,8 a 1,0 cm de ancho y luego nuevamente lavadas con agua potable. De cada hortaliza se tomaron porciones de 150 g que fueron desinfectadas por inmersión durante 4 minutos en una mezcla de aceite esencial al 0,025 % p/v en agua destilada, y 0,025 g·L⁻¹ de polisorbato 80 (Tween 80), empleado como emulsionante.

De igual manera se tomó una porción de 150 g de hortaliza no sometida al proceso de desinfección, como tratamiento control.

Las hortalizas troceadas y desinfectadas fueron colocadas en una estufa, donde fueron expuestas a aire caliente a diferentes temperaturas y tiempos para eliminar el exceso de humedad. Luego se envasaron por separado en bandejas de poliestireno cubiertas con film adherente de PVC, conteniendo 150 g del producto. Las bandejas con las hortalizas mínimamente procesadas fueron almacenadas a una temperatura de refrigeración de 4 °C.

2.3 Propiedades físico-químicas

La humedad se determinó por diferencia de pesos mediante una balanza dotada de estufa infrarroja; el pH, mediante potenciometría (pH-metro); la acidez, mediante una adaptación del método INEN 162 (INEN, 1975); el contenido de vitamina C, mediante el método oficial 984.26 (AOAC, 1985).



2.4 Análisis microbiológicos

Se determinó el número de aerobios mesófilos totales mediante recuento en placa, según el método 1529-5 del INEN (2006); el recuento de mohos y levaduras, según el método 1529-10 del INEN (1998) la investigación de *Staphylococcus aureus* según el método oficial 987.09 de la AOAC (1991); la investigación de *Salmonella* según el método oficial 967.25 de la AOAC (1995) y el recuento de coliformes totales y *Escherichia coli*, mediante el método 1529-7 del INEN (1990).

2.5 Evaluación sensorial

Los atributos sensoriales analizados fueron: color, pardeamiento, sabor, textura y aceptabilidad, para lo cual se utilizaron 17 catadores semi-entrenados de ambos sexos, pertenecientes a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato. Se empleó una

escala hedónica estructurada de 5 puntos donde: 1 es la peor valoración (muy desagradable) y 5 es la mejor valoración (muy agradable), siguiendo la metodología descrita en Saltos (2010), adaptada por Vaca (2013).

2.6 Determinación de la vida útil de las hortalizas

El tiempo de vida útil del mejor tratamiento para cada hortaliza se estableció en función de los resultados de los análisis de aerobios mesófilos y coliformes totales.

Los análisis se realizaron cada 48 horas por un tiempo de 2 semanas para col repollo y col lombarda, mientras que para lechuga y espinaca, se efectuaron durante 1 semana. En la Tabla 1 se muestran los límites máximos aceptados para el recuento de los distintos grupos microbianos estudiados (Provefrut S.A., 2013).

Tabla 1: Límites máximos establecidos en recuentos microbianos de hortalizas mínimamente procesadas (Provefrut S.A.)

Microorganismo	Límite máximo permitido (UFC/g)
Mesófilos aerobios totales	100000 (10E5)
Enterobacterias	1000 (10E3)
Coliformes totales	1000 (10E3)
<i>Staphylococcus aureus</i>	100 (10E2)
<i>E. coli</i>	10 (10E1)
Mohos y Levaduras	10000 (10E4)

2.7 Diseño experimental

Se empleó un diseño experimental completamente aleatorizado, de dos factores ($A \times B$) con tres réplicas/tratamiento para cada una de las hortalizas, más un control.

Los factores estudiados fueron: A, Temperatura, con tres niveles, $a_0 = 40^\circ\text{C}$ $a_1 = 45^\circ\text{C}$ y $a_2 = 50^\circ\text{C}$; B, Tiempo, con dos niveles, $b_0 = 15$ minutos y $b_1 = 30$ minutos.

Los datos fueron analizados mediante el software Excel (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) y el programa estadístico Statgraphics Centurion XVII (Statpoint Technologies Inc. Warrenton, VI, USA).

Las comparaciones entre tratamientos se analizaron mediante análisis de la varianza (ANOVA). Cuando dicho análisis resultó significativo, las medias fueron comparadas mediante el test de rangos

múltiples de Tukey. El nivel de significancia para todos los test estadísticos fue del 5%.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan las características químicas de las cuatro hortalizas estudiadas. Se puede observar que todas presentaron alto contenido de humedad, sobre el 90 %, lo que le hace susceptible al deterioro. El contenido de vitamina C varió de 13,19 mg/100 g en lechuga, 44,79 mg/100 g en col repollo, 50,87 mg/100 g en col lombarda hasta 51,91 mg/100 g en espinaca. Su pH resultó en torno a 6,40 para todas las hortalizas y la acidez cítrica titulable varió desde 0,06 % en lechuga, 0,40 % en col repollo, 0,18 % en col lombarda hasta 0,27 % en espinaca.

Tabla 1. Características físico-químicas de las hortalizas mínimamente procesadas

Hortaliza	Humedad (%)	Vitamina C (mg/100 g m.s.)	pH	Acidez cítrica (%)
Lechuga	93,28±0,55	13,19±0,54	6,4±0,0	0,06±0,01
Col repollo	92,70±0,27	44,79±0,0	6,4±0,0	0,40±0,04
Col lombarda	92,00±0,23	50,87±0,43	6,4±0,0	0,18±0,04
Espinaca	91,40±0,23	51,91±0,43	6,4±0,0	0,27±0,05

Valores promedio y desviación típica (n= 3)

Con respecto al contenido de microorganismos presentes en las hortalizas recién cosechadas sin ningún tratamiento, en la Tabla 2 se observa que el contenido de aerobios mesófilos se halló en el rango permitido según las especificaciones determinadas por Provefrut, más no en mohos y levaduras, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* y coliformes totales, que sobrepasaron los límites permitidos, con excepción de mohos y levaduras en col lombarda que presentó un contenido de

5783±3925 UFC·g⁻¹ y en coliformes totales en col de repollo y col lombarda que presentaron 200±50 UFC/g y 317±125 UFC·g⁻¹ respectivamente. Los valores altos en el contenido de microorganismos, sobre todo en *Staphylococcus aureus* y salmonella, probablemente se debieron al origen del agua de riego empleada por los agricultores productores de las hortalizas.

Tabla 2. Recuentos microbianos en las muestras control de las hortalizas estudiadas (UFC·g⁻¹)*

Hortaliza	Aerobios mesófilos tot.	Mohos y levaduras	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i>	Coliformes totales
Lechuga	34183±2226	23933±15163	433±104	6767±3457	1400±926
Col repollo	24267±18000	11700±608	717±104	850±650	200±50
Col lombarda	12267±5299	5783±3925	200±100	1417±1301	317±125
Espinaca	43750±2107	23000±4108	1650±653	583±125	1367±152

*Valores promedio y desviación típica (n= 3)

En la Tabla 3 se observa que la lechuga, presentó los mismos valores en humedad, pH y acidez tras ser sometida a cualquiera los tratamientos estudiados. En cambio existió una disminución del contenido de vitamina C, cuando la hortaliza se secó a 50 °C, durante 15 y 30 minutos. Dicho efecto también se observó igualmente en espinaca. En

cambio, en col lombarda y en col repollo se observó una pérdida de vitamina C sólo a partir de los 45 °C. La pérdida de esta vitamina se debió al tratamiento de secado y también al aumento de la superficie de exposición al oxígeno que se generó con el troceado de las hortalizas.



Tabla 3. Propiedades físico-químicas de hortalizas mínimamente procesadas, sometidas a diferentes tratamientos de lavado y secado

Hortalizas	Temp. (°C)	Tiempo (min)	Humedad (%)	Vitamina C (mg/100 g)	pH	Acidez titulable (%)
Lechuga	40	15	92,59±0,71 a	12,5±0,00 a	6,36±0,02 a	0,06 ±0,0 a
		30	91,90±1,11 a	12,33±0,43 a	6,34±0,01 a	0,06 ± 0,0 a
	45	15	92,62±0,35 a	11,98±0,57 ab	6,34±0,01 a	0,06 ± 0,0 a
		30	91,81±0,54 a	11,81±0,54 ab	6,34±0,02 a	0,06 ± 0,0 a
	50	15	92,27±1,16 a	11,46±0,00 bc	6,37±0,01 a	0,06 ±0,0 a
		30	91,27± 0,66 a	10,94±0,57 c	6,34±0,02 a	0,06 ±0,0 a
Col repollo	40	15	92,06±0,29 a	44,27±0,57 a	5,97±0,01 ab	0,27 ±0,0 a
		30	91,70±0,17 b	43,92±0,43 ab	5,91±0,01 b	0,27 ±0,0 a
	45	15	91,60±0,31 b	43,40±0,54 bc	6,19±0,3 a	0,27 ±0,0 a
		30	90,88±0,10 c	43,06±0,54 cd	6,02±0,0 ab	0,27 ±0,0 a
	50	15	92,27±0,35 a	42,71±0,00 d	6,08±0,01 ab	0,27 ±0,0 a
		30	92,26±0,43 a	42,71±0,00 d	5,85±0,04 b	0,27 ±0,0 a
Col lombarda	40	15	91,94±0,15 a	50,00±0,00 a	6,16±0,22 a	0,09 ±0,0 a
		30	91,86±0,19 a	50,00±0,00 a	6,12±0,24 a	0,09 ±0,0 a
	45	15	91,12±0,13 b	50,00±0,00 a	6,20±0,15 a	0,09 ±0,0 a
		30	90,53±0,34 c	50,00±0,00 a	6,18±0,18 a	0,09 ± 0,0 a
	50	15	90,52±0,13 c	50,00±0,00 a	6,2 ±0,15 a	0,09 ±0,0 a
		30	90,14±0,10 d	49,48±0,57 a	6,22±0,20 a	0,09 ±0,0 a
Espinaca	40	15	91,06±0,21 a	51,04 ±0,0 a	5,97±0,01 d	0,13 ±0,0 a
		30	90,77±0,14ab	51,04±0,0 a	5,91±0,01 e	0,13 ±0,0 a
	45	15	90,70±0,07ab	50,87±0,43 a	6,06±0,01 b	0,13 ±0,0 a
		30	90,58±0,05 b	50,52±0,57 ab	6,02±0,0 c	0,13 ±0,0 a
	50	15	89,88±0,04 c	50±0,0 bc	6,09±0,01 a	0,13 ±0,0 a
		30	89,24±0,35 d	49,48±0,57 c	5,83±0,01 f	0,13 ±00,0 a

Valores promedio y desviaciones típicas (n= 3). Letras diferentes denotan diferencias significativas al 95% entre dos promedios, dentro de cada hortaliza y parámetro.

En la Tabla 4 se indica el porcentaje de disminución de carga microbiana en los diferentes tratamientos de las hortalizas. Se puede observar que existió un alto porcentaje de disminución que sobrepasó el 50 %, llegando en algunos casos al 100% en algunos microorganismos. A este respecto, se encontró un 100 % de efectividad en la eliminación de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* y coliformes totales en col repollo, col lombarda y espinaca cuando el secado de la hortaliza se hizo a 50 °C y sobre el 93 % en aerobios mesófilos y

mohos y levaduras en las cuatro hortalizas. En lechuga, se obtuvo una disminución algo menor, de hasta un 94 % en *Salmonella*.

La disminución de la carga microbiológica en hortalizas estuvo relacionada con el efecto del aceite esencial de canela y de la temperatura de secado, que óptimamente debe ser sobre los 45 °C. Debe considerarse que según los datos de vitamina C aportados, su pérdida empezó a ocurrir a partir de los 50 °C.

Tabla 4. Disminución (%) de carga microbiana hortalizas mínimamente procesadas, sometidas a diferentes tratamientos de lavado

Hortaliza	Temp. (°C)	Tiempo (min)	Aerobios mesófilos tot.	Mohos y levaduras	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i>	Coliformes totales
Lechuga	40	15	83,33±2,73 b	92,67±1,46 b	68,33±19,59 b	72,0±12,59 ab	90,33±2,37 ab
		30	54,67±2,24 c	91,33±1,88 b	100,00±0,0 a	93,30±4,84 a	86,67±2,08 b
	45	15	93,67±1,31 a	96,67±1,26 a	100,00±0,0 a	93,00±6,56 a	100±0,0 a
		30	90,67±2,79 a	92,67±0,97 b	96,00±6,46 ab	94,00±9,5 a	100±0,0 a
	50	15	94,33±2,19 a	91,33±0,34 b	68,33±15,13 b	69,00±7,99 ab	87,33±8,38 b
		30	91,33±1,53 a	90,67±1,30 b	78,33±12,43 ab	63,0±17,17 b	87,33±1,38 b
Col repollo	40	15	91,67±2,28 a	93,67±0,67 a	78,33±13,23 cd	100,00±0,0 a	91,67±14,43 a
		30	100,0±1,23 a	84,33±3,28 ab	88,67±3,64 abc	100,0±0,0 a	100,00±0,0 a
	45	15	100,0±1,90 a	93,33±0,51 a	83,00±12,51 bc	100,0±0,0 a	100,00±0,0 a
		30	100,0±2,98 a	78,67±8,68 c	68,00±11,64 d	100,0±0,0 a	100,00±0,0 a
	50	15	100,0±1,08 a	92,67±2,40 a	100,00±7,22 a	91,66±14,43 a	100,00±0,0 a
		30	83,33±0,28 a	95,33±1,80 a	95,33±3,73 ab	100,00±0,0 a	83,33±28,87 a
Col lombarda	40	15	88,33±5,65 b	95,67±0,61 a	100,00±0,0 a	100,0±0,0 a	46,33±11,56 c
		30	92,67±3,30 ab	94,67±2,79 a	88,66±9,62 a	91,33±2,12 a	75,00±8,33 b
	45	15	98,67±1,44 a	92,67±1,88 a	100,00±0,0 a	100,00±0,0 a	77,00±11,23 ab
		30	99,33±1,12 a	95,67±1,37 a	100,00±0,0 a	100,00±0,0 a	96,33±6,42 ab
	50	15	97,67±2,19 a	94,33±0,44 a	100,0±0,0 a	100,00±0,0 a	100,00±0,0 a
		30	97,33±2,02 a	96,00±0,99 a	100,0±14,43 a	100,00±0,0 a	100,00±0,0 a
Espinaca	40	15	86,67±2,21 c	90,33±0,65 b	100,00±0,0 a	63,67±5,50 c	79,00±7,92 ab
		30	87,00±1,43 c	85,33±0,83 c	100,00±0,0 a	71,00±4,18 bc	73,33±14,24b
	45	15	95,33±0,33 ab	96,00±1,34 a	100,00±0,0 a	100,00±0,0 a	100,00±0,0 a
		30	93,00±2,01 b	92,00±1,08 b	94,33±3,0 ab	100,00±0,0 a	100,00±0,0 a
	50	15	96,67±0,49 a	78,00±2,81 d	84,00±3,24 b	81,00±7,21 b	93,66±2,42 ab
		30	94,33±0,95 ab	83,33±0,59 c	92,00±12,90 ab	68,66±5,63 bc	94,00±10,31 ab

Valores promedio y desviaciones típicas (n= 3). Letras diferentes denotan diferencias significativas al 95% entre dos promedios, dentro de cada hortaliza y parámetro.

A partir de los datos precedentes, se seleccionó como óptimo el tratamiento de secado a 45 °C/15 min para lechuga, col repollo y espinaca, mientras que para col lombarda se estimó como óptimo el tratamiento de secado a 50 °C/15 min. Con estas consideraciones, se llevó a cabo el estudio de vida útil, en base a las características sensoriales de las hortalizas.

Las características sensoriales de las hortalizas mínimamente procesadas durante el almacenamiento en refrigeración a 4 °C se indican en la Tabla 5.

Respecto a la col repollo, no existieron diferencias significativas ($p < 0,05$) en color, sabor, textura y aceptabilidad durante los 7 días de almacenamiento, pero sí existieron diferencias significativas en el pardeamiento, siendo desde el día 0 hasta el 3, iguales. A partir del día 5, los jueces detectaron el pardeamiento en los bordes de las hortalizas,

disminuyendo, en consecuencia, la calidad de la col repollo.

En col lombarda no existió diferencia significativa en aceptabilidad, pero fue altamente significativa ($\alpha < 0,01$) en los otros atributos. Hasta el tercer día se mantuvieron los valores óptimos de sabor y textura y hasta el quinto día los de color y pardeamiento. A partir del quinto día, se observó una clara merma de calidad.

En lechuga existieron diferencias altamente significativas en todos los atributos estudiados, sólo a partir del tercer día de almacenamiento, comparados con los atributos del día inicial de almacenamiento.

Análogamente, en espinaca también existieron diferencias altamente significativas en todos los atributos a partir del tercer día comparado con el día inicial de almacenamiento.



Tabla 5. Análisis sensorial de hortalizas mínimamente procesadas sometidas a diferentes tratamientos de lavado y secado, almacenadas en refrigeración (4 °C).

Hortaliza	Características	Días de almacenamiento			
		0	3	5	7
Lechuga ¹	Color	4,41±0,51	3,41±0,62	2,76±0,75	2,18±0,64
	Pardeamiento	4,29±0,47	3,71±0,59	2,65±0,70	2,06±0,43
	Sabor	4,47±0,62	3,82±0,64	3,12±0,70	2,18±0,73
	Textura	4,59±0,51	3,94±0,56	2,94±0,75	1,76±0,56
	Aceptabilidad	4,53±0,51	3,76±0,44	2,88±0,33	2,18±0,64
Col repollo ¹	Color	3,30±1,45	3,10±0,99	2,70±1,16	2,50±1,12
	Pardeamiento	3,40±1,23	3,10±1,09	2,60±1,06	2,40±1,00
	Sabor	3,82±1,13	3,59±0,87	3,53±1,01	3,35±1,22
	Textura	4,47±0,51	4,18±0,95	3,88±0,99	3,94±1,09
	Aceptabilidad	3,88±1,22	3,59±1,00	3,29±1,05	3,29±1,10
Col lombarda ¹	Color	3,76±1,03	3,94±1,03	3,47±0,80	3,00±0,79
	Pardeamiento	3,59±1,06	3,59±0,51	2,65±0,61	2,82±0,64
	Sabor	4,24±0,75	3,71±0,59	3,00±0,61	2,76±0,44
	Textura	4,12±0,70	3,65±1,06	2,76±1,15	2,82±1,01
	Aceptabilidad	3,88±1,22	3,59±1,00	3,47±0,87	3,29±1,10
Espinaca ²	Color	4,47±0,51	4,00±0,50	3,12±0,60	2,53±0,51
	Pardeamiento	4,41±0,62	3,76±0,56	3,24±0,56	2,65±0,49
	Sabor	4,18±0,64	3,47±0,80	2,88±0,60	2,35±0,49
	Textura	4,35±0,49	4,00±0,61	3,53±0,62	2,88±0,49
	Aceptabilidad	4,35±0,49	3,59±0,62	2,88±0,49	2,35±0,49

Escala de valoración sensorial: 1 a 5, siendo 5 la mejor puntuación. Valores promedio y desviación típica (n= 3)

¹Secado a 45 °C/15 min.

²Secado a 50 °C/15 min.

A partir de los resultados microbiológicos en función del tiempo (datos no mostrados), se observó que la presencia de microorganismos aerobios mesófilos no fue un factor limitante al cabo de 9 días de almacenamiento refrigerado a 4 °C. Sin embargo el número de coliformes totales sobrepasó los límites establecidos de 1000 UFC/g al quinto día de almacenamiento. Teniendo en cuenta este parámetro, la vida útil resultó ser de 6 días para la col repollo y de 4 días para las demás hortalizas troceadas.

La pérdida de peso durante el almacenamiento tiene una gran influencia en la vida útil y la aceptabilidad de este tipo de productos, ya que cambia la apariencia externa de las hojas dando un aspecto de marchitamiento. Esto ocurrió a partir del tercer día en lechuga y a partir del quinto día en espinaca pero en col repollo y col lombarda no se observó marchitamiento durante los 10 días que se llevó a cabo el estudio de vida útil.

Las pérdidas alcanzaron hasta un 32 % en peso en las hortalizas, lo que es una cantidad considerable. Probablemente, el agua contenida en las hojas vino a ser expulsada por evaporación y transpiración

durante el almacenamiento, ocasionando su deshidratación.

4. CONCLUSIONES

Durante el almacenamiento en refrigeración a 4 °C existieron cambios mínimos en las propiedades físico-químicas de las cuatro hortalizas sometidas a diferentes condiciones de secado que afectaron a su pH, acidez titulable, contenido en vitamina C, así como también a la carga microbiana desarrollada.

La tecnología aplicada ayudó a disminuir la carga microbiana en cada una de las hortalizas, pero conservando sus características físico-químicas, que variaron mínimamente.

Se estableció que el tratamiento de secado a 45 °C durante 15 minutos resultó óptimo para la conservación de la lechuga, la col repollo y la espinaca, mientras que para col lombarda el mejor tratamiento resultó ser el secado a 50 °C durante 15 minutos.

En base a estos tratamientos, la vida útil de estos productos mínimamente procesados llegó a ser de 4

días, para la lechuga, la col lombarda y la espinaca, mientras que para col repollo fue de 6 días.

Se recomienda el uso del aceite esencial de canela para el pretratamiento de lavado de hortalizas mínimamente procesadas, debido a que fue capaz de disminuir significativamente el porcentaje la carga microbiana presente inicialmente en los productos, permitiendo conservar sus propiedades físico-químicas y nutricionales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC. (1985). AOAC Official Method 984.26. Vitamin C (Total) in Food. Semiautomated Fluorometric Method. (pp. 2). : AOAC INTERNATIONAL.
- AOAC. (1991). AOAC Official Method 987.09. *Staphylococcus aureus* in Foods. Most Probable Number Method for Isolation and Enumeration. (pp. 2). : AOAC INTERNATIONAL.
- AOAC. (1995). AOAC Official Method 967.25. *Salmonella* in Foods. Preparation of Culture Media and Reagents. (pp. 3). : AOAC INTERNATIONAL.
- Barrantes, K., y Achí, R. (2011). Calidad microbiológica y análisis de patógenos (*Shigella* y *Salmonella*) en lechuga. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 31(1), 31-36.
- Benintende, S., Sanchez, C., y Sterren, M. (2009). Unidad 4. Ecología microbiana. *Cátedra de Microbiología Agrícola*, 8. Retrieved from http://www.fca.uner.edu.ar/files/academica/deptos/catedras/microbiologia/unidad_4_ecologia_microbiana.pdf
- González, M. V. (2010). *Conservación de mora, uvilla y frutilla mediante la utilización de aceite esencial de canela (Cinnamomum zeylanicum)*. BSc. Thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba (Ecuador).
- INEN. (1975). Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 0162. Mantequilla. Determinación de la acidez titulable.
- INEN. (1990). Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-7. Control microbiológico de los alimentos. Determinación de microorganismos coliformes por la técnica de recuento de colonias (pp. 5).
- INEN. (1998). Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-10. Control Microbiológico de los Alimentos. Mohos y levaduras viables. Recuento en placa por siembra en profundidad. (pp. 6).
- INEN. (2006). Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-5. Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos. REP (pp. 6).
- Lightfoot, N. F., y Maier, E. A. (2002). Directrices para el aseguramiento de la calidad *Análisis microbiológico de alimentos y aguas* (pp. 235). Ciudad: Editorial ACRIBIA, S.A.
- Mendoza, G. X. (2005). *El uso de aceites esenciales como alternativa de conservación orgánica de lechuga (Lactuca sativa)*. BSc. Thesis, Universidad Técnica de Ambato, Ambato (Ecuador).
- Provefrut S.A. (2013). [Límites máximos permitidos para los recuentos microbianos en hortalizas mínimamente procesadas. Comunicación personal.].
- Royo-Bordonaba, M. A. (2007). *Nutrición en Salud Pública*. Madrid (España).
- Saltos, A. (2010). *Sensometría: análisis en el desarrollo de alimentos procesados*. Riobamba (Ecuador): Editorial Pedagógica Freire.
- Vaca, V. V. (2013). *Estudio de la aplicación de aceites esenciales de canela (Cinnamomum zeylanicum) y clavo de olor (Syzygium aromaticum) para optimizar la calidad microbiológica de cuatro tipos de hortalizas: col de repollo (Brassica oleracea var. capitata, cv. bronco), col morada (Brassica oleracea var. capita, cv. rubra), lechuga iceberg tipo salinas (Lactuca sativa var. capitata) y espinaca (Spinacia oleracea L.)*. BSc. Thesis, Universidad Técnica de Ambato, Ambato (Ecuador).



GUIA PARA AUTORES

Tipos de publicaciones

Los trabajos considerados para publicación en la revista podrán pertenecer a las siguientes categorías:

- *Artículos de investigación*, que presenten resultados de trabajos originales de investigación científica o técnica, de **5000 palabras** de extensión máxima (aproximadamente 14 hojas escritas a doble espacio, Times New Roman 12 puntos).
- *Artículos de revisión*, enfocados a la actualización del estado de la técnica o el conocimiento en un campo científico particular, en base la revisión de trabajos publicados o no, **10000 palabras** de extensión máxima (aproximadamente 28 hojas).
- *Notas de investigación*, que presenten resultados preliminares provenientes de investigaciones originales que, por su carácter y alcance, requieren de una rápida difusión, no teniendo una extensión mayor a **2500 palabras** de extensión máxima (aproximadamente 7 hojas).
- *Cartas al Director*, en las que se manifiesten críticas, análisis y/o interpretaciones sobre trabajos publicados en la revista que, a juicio del Comité Editorial, complementen y enriquezcan la discusión sobre las temáticas abordadas, de **750 palabras** de extensión máxima (aproximadamente 2 hojas).

Principios generales

Las contribuciones a la presente publicación son responsabilidad exclusiva de los autores, no comprometiéndolo a la Universidad Técnica de Ambato en general ni a la Facultad de Ciencia y Tecnología de Alimentos en particular.

Mediante el envío de sus trabajos originales a la revista, los autores asumen implícitamente una posición ética respecto a la autoría de los trabajos por la cual cada uno de ellos acepta la publicación del trabajo, siendo incluido como autor por haber tenido una relación directa con la elaboración del trabajo, sea esta de planificación, diseño, ejecución, análisis de datos, redacción, revisión o edición del

manuscrito. No se considera éticamente aceptable la inclusión de autores con vinculación indirecta, (p. ej.: haber financiado o auspiciado el trabajo de investigación) o vinculación nula (p. ej.: ser parte del mismo grupo de investigación, pero sin relación con el trabajo concernido).

Los trabajos deberán ser originales e inéditos, no haberse enviado previa o simultáneamente a otra publicación, sea en formato papel o electrónica, y cumplir con todas las especificaciones de estilo descritas en el documento *Guía para Autores* para que sean aceptados. Todas las referencias a trabajos ajenos, han de ser convenientemente expresadas de forma implícita o explícita, reduciendo al mínimo las citas textuales. Se considerará autoplagio la copia textual o duplicación de material de trabajos previos de los autores sin una indicación clara del origen del mismo.

El Comité Editorial se reserva el derecho de rechazar todo artículo que no esté conforme a las prescripciones mencionadas.

Proceso editorial

A la recepción de los trabajos originales, éstos se enviarán de forma anónima a dos revisores elegidos por el Editor. En el plazo de 30 días naturales, se determinará la aceptación o no de los trabajos remitidos para su ingreso en el proceso de revisión. En caso positivo, se remitirá a los autores las correcciones que los revisores hayan estimado conveniente llevar a cabo. Los autores dispondrán de un nuevo plazo de 30 días para llevar a cabo las correcciones y remitir de nuevo su trabajo a la revista, explicitando todas las modificaciones llevadas a cambio en relación al documento enviado en primera instancia a la revista. Si el resultado de la corrección es a satisfacción del Editor, será aceptado para su inmediata publicación en la revista. En caso negativo, se continuará el proceso de revisión, pudiendo los autores renunciar a él en cualquier momento. A este respecto, una solicitud de publicación decaerá si, tras la demanda de la revista de llevar a cabo correcciones en un artículo, no se recibe respuesta por parte de los autores en un periodo de tiempo de 6 meses, momento a partir del cual, se deberá iniciar un nuevo proceso editorial.

La revista garantiza la completa confidencialidad de cualquier documento recibido durante el proceso de edición de los

trabajos y el reconocimiento de la propiedad intelectual de los autores sobre mismos.

Se permite la reproducción total o parcial de los artículos publicados en la revista, previa autorización por escrito del Editor de la misma así como de los Autores de los artículos.

Las citas o menciones en otras publicaciones se harán de acuerdo a los siguientes ejemplos:

Cita directa o explícita: (Llerena et al., 2014)

Cita indirecta o implícita: Llerena et al. (2014)

Referencia bibliográfica (estilo APA 6ª Ed.):

Llerena, W., Samaniego, I., Ramos, M., y Brito, B. (2014). Caracterización físico-química y funcional de seis frutas tropicales y andinas ecuatorianas. *Alimentos Ciencia e Ingeniería*, 22(2), 13-22.

Formato

El artículo deberá ser remitido en formato electrónico, por correo electrónico o correo postal adjuntando CD-ROM o medio de almacenamiento digital análogo, editable mediante software de procesamiento de texto, preferentemente Microsoft Word o similar, con la siguiente configuración de página:

- Formato A4.
- Márgenes laterales de 3,0 cm y superior e inferior de 2,5 cm.
- Tipografía Times New Roman de 12 puntos en el cuerpo de texto principal.
- Una sola columna, escrita a doble espacio
- Líneas numeradas de forma continua.

En el correo electrónico o CD-ROM deberán entregarse las tablas y figuras incluidas en cada artículo en sus formatos nativos originales (Excel, Powerpoint, etc.), de manera que puedan ser editadas durante el proceso de maquetación, debiendo estar numeradas de la misma forma en que aparecen en el artículo.

Contenido de los artículos de investigación

• Primera página

1. Título

Se escribirá en castellano, tamaño Times New Roman 14, centrado, en letras mayúsculas,

tendrá menos de 15 palabras. Se proporcionará debajo, en el mismo formato, la traducción al idioma inglés.

2. Autores

Para cada autor se incluirá el primer y, en su caso, segundo nombre de pila, el primer apellido, la dirección institucional, mediante un superíndice en números arábigos, y el correo electrónico de contacto del autor de correspondencia, que se significará mediante un asterisco (*).

3. Resumen/Abstract

El resumen se hará en castellano, no excediendo de **300 palabras**. Se escribirá en un sólo párrafo a espacio simple, en el que se incluirá una breve introducción, el objetivo de la investigación, los métodos utilizados y los principales resultados y conclusiones. No se incluirán aquí subdivisiones ni citas bibliográficas. El resumen se traducirá al idioma inglés y se colocará en párrafo aparte del mismo teniendo la palabra *Abstract* como encabezado.

4. Palabras clave/Keywords

Se proporcionarán, a continuación del Resumen, hasta cinco palabras clave en castellano **no incluidas en el título**, lo más descriptivas posibles del trabajo efectuado, de forma que faciliten la búsqueda del artículo a través de los sistemas de indexación y búsqueda bibliográfica. De igual manera, tras el *Abstract*, se proporcionarán las mismas palabras clave (*Keywords*), escritas en idioma inglés.

• Estructura del trabajo

El trabajo se escribirá en texto a columna simple, tamaño Times New Roman 12, justificado. Las secciones se subdividirán, en caso necesario, mediante esquema numerado (1.1, 1.1.1, 1.1.1.1; 1.2, etc.), debiendo las siguientes **secciones**:

Resumen (ya descrito en la descripción de la **Primera página**)

1. **Introducción**, en la que se justificará la motivación que ha llevado a los autores a emprender la investigación y los objetivos perseguidos. Aportará una adecuada base de conocimiento sobre el tema estudiado, evitando extenderse en la descripción de las referencias y la discusión sobre las mismas.
2. **Material y métodos** utilizados en la investigación, describiendo todo de forma



tal que el lector pueda ser capaz de entender completamente o replicar las condiciones experimentales bajo las cuales han trabajado los autores. A este respecto, es necesario mencionar marca y modelo de los principales equipos utilizados y referenciar de forma precisa las técnicas analíticas empleadas, de preferencia, optando por normas estandarizadas y reconocidas en el ámbito internacional, salvo cuando los métodos hayan sido publicados con anterioridad, en cuyo caso, se mencionarán como referencia, describiendo únicamente las modificaciones sustanciales.

Se pide a los autores describir adecuadamente el diseño experimental elegido, las herramientas matemáticas y estadísticas utilizadas y el empleo de unidades de medida y notación del Sistema Internacional, así como adherirse a las normas internacionales de nomenclatura binomial de plantas y animales y hacer uso de abreviaturas previamente explicadas en el texto.

3. Resultados y discusión de los mismos, aportando las tablas, figuras, gráficos y diagramas que sean necesarias. Los resultados serán claros y concisos. Todo aporte de información original por parte de los autores deberá ser contrastado, en la medida de lo posible, con referencias a otros autores, explicando el significado que la nueva información supone dentro del contexto científico-técnico en el que se sitúa el artículo. La mera descripción numérica o textual de los resultados, dejada a libre interpretación del lector, no será considerada aceptable por el Comité Editorial en ningún caso.
4. Conclusiones, en las que se resuman los principales resultados obtenidos en la investigación. Esta sección, podrá tener entidad propia o integrarse dentro de la sección precedente.

Agradecimientos, sección opcional de la que se servirán los autores para el reconocimiento a aquellas personas u organismos que proveyeron de ayuda durante la elaboración del trabajo, bien aportando fuentes de financiación, material experimental, corrigiendo el manuscrito o aportando su opinión crítica.

Referencias bibliográficas, en las que se incluirán las fuentes de información utilizadas por los autores en la introducción, material y métodos y discusión de los resultados. Todas las

citas utilizadas en el texto han de estar presentes en las referencias y cada referencia, ha de estar citada en el texto. El formato utilizado para la inclusión de las citas y referencias bibliográficas será APA 6ª edición (<http://www.apastyle.org>). A este respecto, se recomienda a los autores la utilización de software de gestión bibliográfica (Endnote, Refworks, Mendeley, etc.) para evitar errores de formato y facilitar el flujo de trabajo al Comité Editorial. En cualquier caso, las referencias han de estar completas, de forma que el lector pueda localizar sin dificultad la fuente de información utilizada por los autores. Se recomienda la inclusión del identificador digital de objeto (DOI) de los artículos, cuando esté disponible (<http://www.doi.org/>).

• Inserción de elementos no textuales en el trabajo

1. Tablas: se proporcionarán aparte del texto principal y numerarán en Times New Roman 10, en la parte superior, de forma correlativa (Tabla 1, Tabla 2, etc.) según se vayan citando en el texto. Cada tabla deberá venir acompañada, a continuación de su numeración, de un título adecuadamente informativo, aportando las condiciones experimentales si es necesario, de forma que el lector no tenga la necesidad de referirse al texto para entender el contenido de la tabla (autoexplicativa). Los autores podrán utilizar notas al pie de las tablas para aclarar cualquier información o abreviatura utilizada, empleando para ello superíndices. Los autores deberán asegurarse de que la información ofrecida por las tablas no duplica la ofrecida por las figuras y viceversa. Al aportar información analítica, los autores deberán especificar los valores promedio y estadísticos de variabilidad de los datos (desviación típica, error estándar, coeficiente de variación, etc.), además del número de réplicas llevadas a cabo en cada determinación. Las probabilidades se indicarán mediante la siguiente convención: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ y *** $P < 0,001$. El texto dentro de las tablas será Times New Roman 10. Se recomienda emplear las herramientas de formato propias del procesador de textos Microsoft Word para crear las tablas. La inserción de tablas en formato gráfico (JPG, TIFF etc.) está fuertemente desaconsejada, por no permitir la correcta edición de las mismas en la versión final de la revista.

2. **Figuras:** se proporcionarán aparte del texto principal y numerarán, en Times New Roman 10, en la parte inferior, fuera de la propia figura, de forma correlativa (Figura 1, Figura 2, etc.) según se vayan citando en el texto. Cada figura deberá venir acompañada, a continuación de su numeración, de un título adecuadamente informativo, de forma que el lector no tenga la necesidad de referirse al texto para entender el contenido de la figura (autoexplicativa). Las figuras han de ser presentadas en formatos gráficos de adecuada calidad, como JPEG (con compresión no superior al 80%) o TIFF. Los formatos optimizados para presentación en pantalla (GIF, BMP, PICT, etc.) no ofrecen suficiente calidad para la impresión en formato papel, por lo que ha de evitarse su uso. Se recomienda, para elementos a color, una resolución mínima de 300 ppp (píxeles por pulgada), para medios tonos o escala de grises, una resolución mínima de 500 ppp y para elementos bitmap (blanco/negro) una resolución mínima de 1000 ppp.

La revista se publica en formato digital a color pero, dado que la versión impresa de la revista se edita en blanco y negro, se recomienda a los autores elaborar las figuras de forma que sigan siendo comprensibles en la gama de tonalidades de escala de grises, maximizando el contraste de los elementos gráficos, empleando símbolos claramente diferenciados, etc.

3. **Ecuaciones:** se intercalarán en el texto principal a medida que sea necesario, numerándose de forma correlativa mediante la notación Ecuación 1, Ecuación 2, etc. Para su incorporación al texto, se aconseja el uso del editor de ecuaciones del procesador de textos Microsoft Word o análogo (MathType, LaTeX, etc.). Todos los términos de cada ecuación deberán ser explicados convenientemente, incluyendo las unidades de cada término.

los artículos de investigación, salvo en su extensión. Las revisiones incluirán resumen y palabras clave, pero no material y métodos ni resultados y discusión, aunque sí pueden incluir una sección de conclusiones, además de las referencias bibliográficas. Las cartas al Editor, podrán tener estructura libre.

Contenido de trabajos diferentes a los artículos de investigación

Para las revisiones, notas de investigación y cartas al Editor, el formato de estos trabajos será similar al de los artículos de investigación en cuanto al tipo y tamaño de letra en el cuerpo principal (Times New Roman 12) y las figuras y tablas (Times New Roman 10). La estructura de las notas de investigación será análoga a la de



RIGHT SOLUTIONS RIGHT PARTNER

ALS Corplab dispone de laboratorios especializados que cuentan con la capacidad y experiencia para analizar elementos en todas las matrices medioambientales incluyendo:

Calidad de agua; Suelo, sedimento y lodo; Calidad de aire; Emisiones gaseosas; Ruido ambiental; Salud ocupacional y Ecosistemas.

Los sistemas de calidad empleados en nuestros laboratorios, de aplicación regional y consistencia global, han sido diseñados para proveer resultados analíticos confiables y con sustento legal que satisfacen las exigencias locales e internacionales de los organismos de acreditación, certificación y autorización. Contamos con la acreditación ISO 17025 y certificaciones ISO 9001/14001 y OHSAS 18001.

www.alsglobal.com • www.corplab.net • PBX 593 2 3414080 • Quito. Ecuador



PRÉSTAMOS PYMES

PARA ACTIVOS FIJOS Y CAPITAL DEL TRABAJO



**LA SOLUCIÓN INTEGRAL
PARA LAS NECESIDADES
DE TU EMPRESA**

Dale forma a tus sueños

Matriz: Sucre y Quito (Esq) / **Teléfono:** 2997999

Agencia Sur: Av. Julio Jaramillo entre Atahualpa y Segundo Granja / **Teléfono:** 2406280 - 2408004

Búscanos

Coop. de Ahorro y Crédito El Sagrario

www.elsagrario.fin.ec



Panificación
Pastelería

Productos, Materias Primas y
Aditivos para Alimentos

- Gluten Vital de trigo
- Ajonjolí Pelado
- Ajonjolí Natural
- Coco Rallado
- Jaleas para decoración de tortas (fresas, durazno, piña, chocolate, neutra, manzana, mora, manjar)
- Fosfato Monocálcico
- Emulsificantes (Lecitina en polvo, SSL, Monoglicéridos)
- Ácido Sórbico
- Ácido Cítrico
- Ácido Ascórbico
- Goma Xanthan
- Sorbato de Potasio
- Propionato de Calcio o Antimoho

Guayaquil: Autopista Duran Boliche Km. 6 ½
Teléfono: 099 8312135 • E-mail: info@crifood.com

www.crifood.com



Distribuidores Autorizados en Ecuador



Thomas
Scientific

EQUIPOS DE LABORATORIO PARA ANÁLISIS FÍSICOS O QUÍMICOS Y REACTIVOS

COLE PARMER, USA

Equipo en general de laboratorio: balanzas, medidores de pH
Cromatógrafos, muflas, baños maría

BACHARACH, U.S.A.

Equipos para análisis de gases de combustión

THOMAS, U.S.A.

Equipos generales de laboratorio

LNI

Equipos generadores de hidrógeno de alta pureza

HACH, U.S.A.

Equipo para análisis de aguas, suelos, nutrientes
reactivos HACH

HORIBA, U.S.A.

Equipos para análisis de azufre en petróleo

KOEHLER

Equipo general de análisis de petróleo

WILKS ENTERPRISE

Equipos para análisis de TPH y TOG en agua y suelos

HORIBA
Explore the future

BACHARACH
For Maximum Efficiency

Cole-Parmer
Delivering Solutions You Trust

KOHLER

www.hdm-elquitecnica.com.ec



Quito:

Av. República del Salvador N35-182
y Suecia Edif. Almirante Colón 4to piso
Telf.: (593-2) 246 2251 / 246 4587
E-mail: hdm_quito@andinet.net

Guayaquil:

La Alborada - etapa 10, Mz 504, villa 9.
Telfs.: (593-4) 223 9380 / 227 8294
E-mail: hdm_gye@gye.satnet.net

Naturalmente
Delicioso !



PROALPI • Procesadora de Alimentos Pillaro
03 246 1603 • 0999657697

PILLARO - ECUADOR



LACONAL

LABORATORIO DE CONTROL
Y ANALISIS DE ALIMENTOS

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA
E INGENIERÍA EN ALIMENTOS

ÁREA DE MICROBIOLOGÍA

Análisis microbiológico de materias primas, productos naturales, productos terminados

- Lácteos y derivados
- Cereales y derivados
- Cárnicos y embutidos
- Mariscos
- Confites
- Aguas consumo
- Alimentos en general
- Alimentos preparados (catering)
- Monitoreo ambiental
- Validación de limpieza

Servicio de toma de muestras dentro y fuera de la ciudad



Servicio de
Acreditación
Ecuatoriano

Acreditación N° OAE LE C 10-008
LABORATORIO DE ENSAYOS

ÁREA DE ALIMENTOS

Análisis físico-químicos en:

- Lácteos y derivados
- Cereales y derivados
- Cárnicos y derivados
- Análisis de aguas
- Alimentación animal
- Alimentos en general
- Materias primas
- Productos naturales,
- Productos terminados.

Informe técnico para obtención registro sanitario

Informe nutricional

Ficha de estabilidad

Preparación de reactivos



