

ÁREA CIENCIA E INGENIERÍA DE LOS ALIMENTOS

TRABAJOS COMPLETOS

Índice

01TCA. Influencia del pH y la temperatura sobre el crecimiento de <i>Staphylococcus vitulinus</i> ACU-10.	291
02TCA. Desarrollo de bebidas analcohólicas con pigmentos naturales antocianos encapsulados	297
03TCA. Bebidas analcohólicas a base de jugo de naranja: Caracterización físico-química y nutricional, recomendación para consumidores en Argentina	302
04TCA. Obtención y caracterización de ensilado químico de residuos de mero (<i>Acanthistius patachonicus</i>).....	309
05TCA. Caracterización bromatológica complementada y determinación de factores tóxicos presentes en dos variedades de verdolaga (<i>Portulaca oleracea</i> L.) cruda y cocida.....	316
06TCA. Efecto del 1-metilciclopropeno en el proceso de estrés oxidativo y el desarrollo de escaldadura superficial en peras.	324
07TCA. Influencia de cultivos iniciadores autóctonos sobre el atributo color en vinos Patagónicos	331
08TCA. Revalorización del yacón como fuente de fruto-oligosacáridos (FOS) para la formulación de mermeladas de alto valor nutricional reducidas en calorías.....	338
09TCA. Modelado numérico computacional de la pasteurización aplicada a una mermelada de uva bajas calorías con azúcares sustituidos por <i>Stevia</i>	347
10TCA. Obtención de fibra alimentaria a partir de cascarilla de soja.....	355
11TCA. Evaluación de la composición mineral en variedades de aceitunas verdes naturales y elaboradas en el Valle Central. Catamarca.....	360
12TCA. Expeller de soja como soporte de <i>L. casei</i> y efecto de la presencia del probiótico sobre la composición de la pared celular del tejido vegetal.....	293
13TCA. Agregar valor a la carne de conejo mediante la elaboración de productos cárnicos....	299
14TCA. Estudio de la contaminación microbiológica de alimentos manufacturados en casas de comidas de la ciudad de La Rioja	309
15TCA. Comportamiento reológico de masas obtenidas a partir de harina de trigo complementada con subproducto de la industria aceitera de pistacho.....	315
16TCA. Efecto del reemplazo parcial de cloruro de sodio por cloruro de potasio sobre características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de fiambres cocidos de cerdo para emparedados.....	321
17TCA. Indicador de pH a base de complejos de polieléctrolitos y extracto de antocianinas.....	327
18TCA. Formulación y caracterización de películas compuestas de almidón y pectina	335
19TCA. Modelación y comparación de propiedades materiales durante la extracción de aceite de colza.....	343
20TCA. Rehidratación de sistemas encapsulados de pigmentos antocianos por gelación iónica, su análisis sobre diferentes técnicas de secado y composición de pared	350
21TCA. Peptidasas de <i>Aspergillus niger</i> NRRL 3: optimización de su producción por fermentación en estado sólido, purificación y caracterización.....	358
22TCA. Aplicación de hidrolizados de residuos de merluza (<i>Merluccius hubbsi</i>) en el cultivo de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	365
23TCA. Caracterización de bagazo de manzana como sustrato para la producción de biomasa de levaduras vínicas autóctonas.	371
24TCA. Desarrollo de sistemas bicapa ensamblando alcohol polivinílico y nanocompuestos de quitosano	378
25TCA. Antioxidantes Naturales: encapsulación y estabilidad térmica de los extractos etanólicos de <i>Vaccinium myrtillus</i> (arándano) y <i>Schinus molle</i> L. (Aguaribay)	386
26TCA. Incorporación de un concentrado de proteínas y materia grasa del lactosuero en alimentos.....	391

27TCA. Deshidratación osmótica combinada asistida por ultrasonido para la obtención de un snack natural de manzana y miel.....	399
28TCA. Secado del Hongo Portobello: Influencia de la Temperatura y Velocidad del Aire en la Cinética de Secado.....	406
29TCA. Agricultura en San Rafael: Evolución histórica de la ocupación del suelo para este uso.....	416
30TCA. Cinética de extracción de saponinas en semillas de Quinoa remojadas (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd).....	426
31TCA. Mejora en rendimiento de extracción mecánica de aceite de semilla de Pepita de damasco.....	434
33TCA. Envases biodegradables a base de gelatina para la conservación de arándanos.....	441
34TCA. Elaboración de snacks de frutilla por deshidratación.....	455
35TCA. Efecto de la incorporación de harina de soja y almidón pre-gelatinizado de mandioca sobre la calidad de pan libre de gluten a base de harinas de arroz.....	462
36TCA. Modelado matemático simultáneo del contenido de humedad, temperatura y calidad en función del tiempo para laminados de rosa mosqueta deshidratados al vacío.....	468
37TCA. Efecto de diferentes aceites vegetales sobre las características físicas y de color en galletitas dulces libres de gluten enriquecidas con pasas de arándanos.....	479
38TCA. Análisis de parámetros texturales en galletitas dulces libres de gluten elaboradas con diferentes aceites vegetales y enriquecidas con pasas de arándanos.....	486
39TCA. Características fisicoquímicas de carne vacuna tratada con soluciones salinas y sometidas a tratamiento de altas presiones.....	493
40TCA. Obtención y caracterización de fibras insolubles de cáscara de soja. Aplicación en el desarrollo de emulsiones alimentarias.....	502
41TCA. Efecto de la sustitución de harina de arroz nativa por harina modificada sobre la calidad de pasta sin gluten.....	513
42TCA. Caracterización fisicoquímica del extracto de topinambur (<i>Helianthus tuberosus</i> L).....	519
43TCA. Análisis del comportamiento de semillas de <i>Citrus limon</i> L. Burm vc. <i>eureka</i> frente a procesos de deshidratación controlada.....	526
44TCA. Salado húmedo de merluza: evaluación de aspectos fisicoquímicos y de color, determinación de parámetros cinéticos y coeficientes de transferencia de masa.....	537
45TCA. Efecto de la harina de lombriz (<i>Eisenia foetida</i>) liofilizada en la nutrición de peces.....	549
46TCA. Evaluación y caracterización de films y recubrimientos de almidón de mandioca.....	556
47TCA. Efecto de la fermentación sobre el potencial de panificación de almidones de mandioca y ahipa.....	563
48TCA. Cinética de Hidrólisis empleando Polvo de Ricino como Biocatalizador.....	571
49TCA. Caracterización de harinas obtenidas a partir de dos variedades de tubérculos de topinambur (<i>Helianthus tuberosus</i> L.).....	578
50TCA. Caracterización de hidrogeles de alginato de sodio y pectina de bajo grado de metoxilación durante pre-tratamientos de deshidratación osmótica.....	585
51TCA. Emulsiones ácidas aceite en agua preparadas con concentrados proteicos de suero de tofu. Estudio de la estabilidad frente al trabajo mecánico.....	592
52TCA. Control estadístico de proceso aplicado en la industria avícola.....	600
53TCA. Composición química y comportamiento térmico y microestructural de la grasa de cupuassu y sus fracciones.....	607

01TCA. Influencia del pH y la temperatura sobre el crecimiento de *Staphylococcus vitulinus* ACU-10.

Influence of pH and temperature on the growth of *Staphylococcus vitulinus* ACU-10.

Gabriela Kolarik¹, Noelia Palavecino Prpich^{1,2}, Elisa Cayré¹, Marcela Castro^{1,2}.

Universidad Nacional del Chaco Austral. Cte. Fernández 755, Pcia. Roque Sáenz Peña, Chaco.
Dirección. 2. Concejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).
mcastro@uncaus.edu.ar

Resumen

Staphylococcus vitulinus ACU-10 es parte de un cultivo starter autóctono (SAS-1) con potencial aplicación en la industria cárnica del NEA. La producción a mayor escala de los microorganismos involucrados en este cultivo es un paso fundamental para su aplicación industrial. Esto requiere optimizar las condiciones de cultivo que permitan maximizar la producción de biomasa. El objeto de este trabajo fue evaluar la influencia del pH y la temperatura sobre el crecimiento de *S. vitulinus* ACU-10 para establecer los parámetros fisicoquímicos que favorezcan un mayor rendimiento de la biomasa. Se evaluó el crecimiento de esta cepa en caldo tripticasa soya a diferentes temperaturas (entre 25 y 42°C) y valores de pH (entre 4,5 y 8,0). El crecimiento microbiano se monitoreó por DO_{600nm} durante 12 h. Los datos obtenidos se utilizaron para ajustar la ecuación modificada de Gompertz y estimar los parámetros cinéticos de crecimiento. Se determinó que el rango óptimo de temperatura para la producción de biomasa estuvo comprendido entre 35 y 37°C, en tanto que el rango de pH entre 6,0 y 8,0. En conclusión, se establecieron las condiciones óptimas de temperatura y pH, para la producción de biomasa de *S. vitulinus* ACU-10, constituyendo el primer paso en la optimización de biomasa del cultivo SAS-1.

Palabras clave: biomasa, optimización, cultivo starter cárnico.

Abstract

Staphylococcus vitulinus ACU-10 is part of the autochthonous starter culture (SAS-1), which has potential application in local meat industries. A scale-up of microorganisms' production is a must to proceed with culture industrial use; hence, parameters that lead to maximize biomass production have to be well established. This work evaluates pH and temperature values which best influence *S. vitulinus* ACU-10 growth to achieve the highest biomass yield. Bacterial growth was conducted in Trypticase-Soy broth at different temperatures (a range between 25-42° C) and pH values (a range between 4.5-8.0). This growth was monitored by OD_{600nm} for 12 h. Collected data were used to adjust modified Gompertz equation and to estimate growth kinetic parameters. The optimal range for biomass production growth was determined between 35 and 37° C and a pH between 6.0 and 8.0. In conclusion, the first step in the optimization of *S. vitulinus* ACU-10 growth was established as a means to get the highest biomass production for SAS-1 culture industrial utilization.

Keywords: biomass, optimization, meat starter culture

1. Introducción

La popularidad de los productos artesanales y tradicionales se ha incrementado recientemente, con un retorno al consumo de alimentos con identidad local (Leroy *et al.*, 2015). En la región NEA, los productos cárnicos fermentados que se consumen son elaborados artesanalmente siguiendo recetas ancestrales. Ahora bien, estas fermentaciones cárnicas se producen por el crecimiento espontáneo de la flora indígena; en estas condiciones, no es posible asegurar la homogeneidad en la calidad del producto a lo largo del tiempo. Consecuentemente, el uso de cultivos iniciadores (starter) nativos en la

elaboración de productos cárnicos fermentados representaría una herramienta útil para garantizar la seguridad alimentaria y estandarizar las propiedades del producto sin afectar las características sensoriales propias del producto (Baka *et al.*, 2011; Bonomo *et al.*, 2011; Ravyts *et al.*, 2012).

Para la producción de salamines, un cultivo starter contiene principalmente bacterias lácticas (BL) y cocos coagulasa negativos (CCN) (Drosinos *et al.*, 2007). Las BL durante la fermentación cárnica son las responsables de la acidificación, mientras que los CCN juegan un rol preponderante en la

formación de color (Hammes, 2012). El cultivo starter autóctono SAS-1 ha sido diseñado a partir de la microbiota nativa de productos cárnicos fermentados elaborados en la provincia del Chaco (Palavecino Prpich *et al.*, 2015 b). Este cultivo, compuesto por *Lactobacillus sakei* ACU-2 y *Staphylococcus vitulinus* ACU-10, fue evaluado *in situ* en una pequeña industria elaboradora. Su performance demostró mejorar la calidad y seguridad de los salamines, preservando sus características sensoriales típicas (Palavecino Prpich *et al.*, 2016).

Lactobacillus sakei ACU-2 se caracteriza por tener una buena cinética de crecimiento y acidificación, además de actividad proteolítica y nitrato-reductasa (Palavecino Prpich *et al.*, 2015a). Estas características son indispensables para que el microorganismo pueda colonizar adecuadamente la matriz cárnica y generar suficientes cantidades de ácidos orgánicos. El descenso del pH en la fermentación de la carne es crucial ya que contribuye a la inhibición de la microflora indeseable, acelera el desarrollo del enrojecimiento, beneficia al flavor y reduce la capacidad de retención de agua de las proteínas, lo cual favorece el posterior proceso de secado (Vernam & Sutherland, 1995).

Por otro lado, *S. vitulinus* ACU-10 tiene una marcada actividad proteolítica y nitrato reductasa. El establecimiento de una comunidad específica de CCN es de importancia tecnológica ya que contribuye a la estabilización del color, a la actividad antioxidante y a la generación del flavor durante la fermentación de la carne (Janssens *et al.*, 2014). La habilidad de los CCN para reducir los nitratos a nitritos es fundamental para la formación de nitrosomioglobina, responsable del color rojo característico de los productos cárnicos fermentados.

La incorporación de un cultivo starter a la línea de producción requiere una cantidad sustancial de masa microbiana. Surge entonces la necesidad de producir los microorganismos involucrados en el SAS-1 en una mayor escala, para lo cual se deben optimizar las condiciones de cultivo que permitan el mayor rendimiento en biomasa. En este sentido, el conocimiento de los factores que ejercen mayor influencia sobre el crecimiento de los microorganismos es de crucial importancia para encontrar sustratos de grado alimenticio, de bajo costo, que permitan su producción.

La optimización de las condiciones de cultivo utilizando la metodología clásica comprende el cambio en los valores de una variable independiente por vez (OVAT-one variable at time)

mientras que las otras variables permanecen en valores fijos. Si bien el procedimiento OVAT es lento, resulta adecuado como etapa preliminar dentro de un proceso de optimización seguido por la utilización de diseños estadísticos específicos (Trinetta *et al.*, 2008).

Es ampliamente conocido que los factores fisicoquímicos como el pH y la temperatura afectan el crecimiento de los microorganismos. El género *Staphylococcus* tiene un rango óptimo de temperatura comprendido entre 30 y 37°C, y varios autores han descrito la habilidad de los CCN, de origen cárnico, de crecer a pH comprendidos entre 5,0 y 6,5 (Cachaldora *et al.*, 2013; Bonomo *et al.* 2009; Martín *et al.*, 2007). No obstante, muchas características fisiológicas, como la temperatura y el pH óptimo de crecimiento; son cepa dependiente (Drosinos *et al.*, 2005) por lo que cada caso particular debe ser evaluado.

Por lo expuesto el presente trabajo plantea evaluar la influencia del pH y la temperatura sobre el crecimiento de *S. vitulinus* ACU-10 con el objeto de establecer los parámetros fisicoquímicos que permitan obtener la mayor producción de biomasa en el menor tiempo posible.

2. Materiales y métodos

2.1. Microorganismo y condiciones de cultivo.

El microorganismo utilizado fue *Staphylococcus vitulinus* ACU-10. La cepa se conserva en el cepario del Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la UNCAus (Universidad Nacional del Chaco Austral) a -20° C en caldo Tripticasa Soya (TS), suplementado con 20 % (v/v) de glicerol como agente crioprotector. Para su empleo, la cepa fue activada mediante repiques sucesivos en caldo TS (Britania, Argentina), suplementado con 0,6% de Extracto de Levadura (Britania), durante 24 h a 30° C.

2.2. Determinación del crecimiento microbiano

El crecimiento del microorganismo bajo las diferentes condiciones ensayadas se monitoreó mediante los cambios de densidad óptica (DO) a 600 nm con espectrofotómetro UV-Visible 60 Cary (Agilent Technologies, Estados Unidos).

2.3. Efecto de las condiciones de crecimiento

El efecto de la temperatura de incubación sobre el crecimiento de *S. vitulinus* ACU-10 se determinó sobre caldo TS + 0,6% de extracto de levadura (a pH 7±0,2). El medio se inoculó al 1% (v/v) con un

cultivo activo de la cepa y se incubó por 12 h a 25, 30, 35, 37 y 42°C. Durante este período de tiempo se monitoreó regularmente la densidad óptica a 600 nm.

El efecto del pH inicial del medio sobre el crecimiento de *S. vitulinus* ACU-10 se determinó sobre caldo TS + 0,6% de extracto de lavadura. El pH se ajustó a los siguientes valores: 4,5; 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5 y 8,0 con HCl 5N o Na(OH) 5N. A intervalos regulares de tiempo, durante la incubación a 37°C, se monitoreó la densidad óptica a 600 nm.

2.4. Estimación de parámetros cinéticos

Los datos obtenidos para el crecimiento microbiano expresados como Log (DO₆₀₀) se usaron para ajustar la ecuación modificada de Gompertz (Zwietering *et al.*, 1990) cuya expresión es:

$$y(t) = y_0 + (y_{\max} - y_0) \exp \left\{ - \exp \left[1 + \mu_{\max} e \left(\frac{\lambda - t}{y_{\max} - y_0} \right) \right] \right\} \quad (1)$$

donde:

$y(t) = \text{Log}(\text{DO}_{600})$ = la densidad óptica del cultivo al tiempo t

y_0 = valor asintótico inferior y aproximadamente igual a la Log (DO₆₀₀) inicial

y_{\max} = valor asintótico superior y aproximadamente igual al valor máximo de Log (DO₆₀₀) alcanzado

μ_{\max} = máxima velocidad específica de crecimiento [tiempo⁻¹]

λ = duración de la fase de latencia [tiempo]

2.5. Análisis estadístico

Todos los ensayos se realizaron por duplicado. Los resultados se expresaron como el valor medio \pm desviación estándar. La ecuación modificada de Gompertz se ajustó con los datos de crecimiento mediante regresión no lineal, utilizando el algoritmo de Marquardt. El efecto del pH y la temperatura sobre el crecimiento de *S. vitulinus* ACU-10 se evaluó por análisis de varianza (ANOVA) de una vía. Cuando el valor p del análisis resultó $<0,05$ se utilizó el test de Tukey para separar las medias. Todos los análisis se realizaron utilizando STATGRAPHICS Plus 4.0 (Statistical Graphics Corp., Rockville, MD, USA).

3. Resultados y Discusión

3.1. Modelado del crecimiento microbiano.

Los valores de DO₆₀₀ obtenidos experimentalmente se usaron para ajustar un modelo matemático de crecimiento y estimar los parámetros cinéticos

correspondientes. La **Figura 1** muestra las curvas de crecimiento ajustadas a la ecuación (1) para las diferentes condiciones de temperatura ensayadas. Los valores de R^2 obtenidos en los ajustes variaron entre un mínimo de 98,48 y un máximo de 99,98. Estos resultados indican que la ecuación modificada de Gompertz explica un alto porcentaje de la variabilidad de los logaritmos de la DO₆₀₀ en el tiempo.

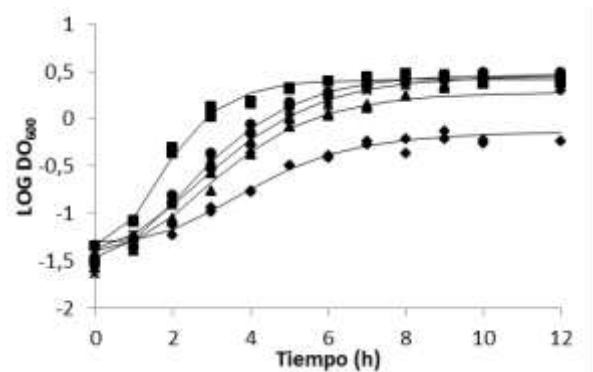


Figura 1: Curvas de crecimiento de *S. vitulinus* ACU-10 a \diamond 25°C, \blacktriangle 30°C, \times 35°C, \bullet 37°C y \blacksquare 42°C. Los puntos representan los valores observados y las líneas continuas el crecimiento estimado a partir del ajuste a la ecuación de Gompertz.

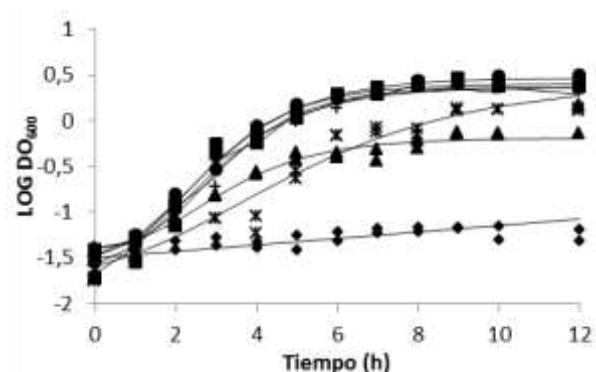


Figura 2: Curvas de crecimiento de *S. vitulinus* ACU-10 a diferentes pH. Los puntos representan los valores observados y las líneas continuas el crecimiento estimado a partir de la ecuación de Gompertz a pH: \blacktriangle 5,5; \times 6; $+$ 6,5; $-$ 7; \bullet 7,5; \blacksquare 8. Para pH 4,5 \diamond ; los datos fueron ajustados utilizando regresión lineal.

La **Figura 2** muestra las curvas de crecimiento obtenidas a cada uno de los valores de pH ensayados. El modelo de Gompertz fue adecuado para ajustar los valores experimentales obtenidos a pH 5,5; 6,0; 7,0; 7,5 y 8,0 ($R^2 = 97,9 - 99,55$) pero no los obtenidos a pH 4,5. En este último caso, los datos fueron ajustados, mediante regresión lineal a una recta. El análisis estadístico mostró que la pendiente de la misma difiere significativamente de cero ($p < 0,05$) por lo que el valor de la misma fue

adoptado como velocidad de crecimiento del sistema.

3.2. Efecto de la temperatura sobre el crecimiento de *S. vitulinus* ACU-10

La **Tabla 1** presenta los parámetros cinéticos μ_{\max} (h^{-1}) y $\text{Log}(\text{DO}_{600})_{\max}$ estimados a partir de la ecuación de Gompertz para las diferentes temperaturas ensayadas. Se muestra además, el valor de la biomasa X al final del período de incubación, expresada en gramos de células secas por litro ($\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$). Este parámetro se calculó partir de una curva de calibración de DO_{600} versus peso seco.

Tabla 1: Parámetros cinéticos de *S. vitulinus* ACU-10 a diferentes temperaturas.

Temperatura	μ_{\max} (h^{-1})	Log DO_{\max}	X ($\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$)
25°C	0,25 ^a ±0,02	-0,14±0,04	0,23 ^a ±0,02
30 °C	0,37 ^{bc} ±0,00	0,36±0,03	0,77 ^b ±0,05
35°C	0,39 ^{bc} ±0,04	0,47±0,03	1,00 ^c ±0,08
37° C	0,45 ^{cd} ±0,01	0,45±0,01	0,97 ^c ±0,01
42°C	0,62 ^d ±0,08	0,41±0,01	0,88 ^b ±0,02

Los valores expresan la media \pm la desviación estándar. Para la velocidad de crecimiento μ_{\max} , y la biomasa X , dentro de cada columna, los valores medios con diferentes letras de superíndice son diferentes (pv <0,05, prueba de Tukey).

Staphylococcus vitulinus ACU-10 fue capaz de crecer a todas las temperaturas ensayadas. Como se puede observar en la **Tabla 1** la velocidad de crecimiento incrementa con la temperatura, alcanzando el máximo valor a 42° C. Estos resultados están en concordancia con la naturaleza mesófila del género *Staphylococcus* que es capaz de desarrollarse a temperaturas comprendidas entre 10 y 46° C. Sin embargo, tanto el valor estimado de Log DO_{600} máximo como el valor la biomasa, fueron significativamente mayores para las temperaturas de 35 y 37°C. La misma tendencia fue reportada por Ravyts *et al.* (2009) para la relación velocidad de crecimiento-temperatura en otras especies de *Staphylococcus* (*S. xylosus* PA36 y *S. carnosus* 833). Ahora bien, estos autores reportaron que la biomasa disminuía con el aumento de la temperatura para el caso de *S. xylosus*, en tanto que *S. carnosus* 833 no mostraba variaciones de la biomasa con la temperatura de incubación. Los valores de la fase de latencia λ , no mostraron diferencias significativas (los datos no se muestran en la tabla) y el valor medio de las mismas fue de $0,92 \pm 0,44$ h.

En función de los resultados hallados, se establecerá como rango de temperatura óptima para

la producción de biomasa de *S. vitulinus* ACU- 10 el comprendido entre 35°C y 37°C.

3.3. Efecto del pH sobre el crecimiento de *S. vitulinus* ACU-10

La **Tabla 2** presenta los parámetros cinéticos estimados del crecimiento a diferentes valores de pH inicial, así como también el valor de la biomasa. Si bien las velocidades de crecimiento aumentan con el pH, la relación entre estos dos parámetros no es tan marcada como en el caso de la temperatura. Los valores de μ_{\max} alcanzan el valor más alto en el rango de pH comprendido entre 6,5 y 8,0. El crecimiento del microorganismo a pH 4,5 muestra una velocidad de crecimiento muy baja evidenciando la dificultad del mismo para desarrollarse en medio ácido. Los valores de la fase de latencia λ , para los valores de pH comprendidos entre 5,0 y 8,0 no mostraron diferencias significativas (datos no mostrados) y el valor medio de las mismas fue $0,93 \pm 0,56$ h. No se pudo estimar la fase de latencia a pH 4,5.

Tabla 2. Parámetros cinéticos de *S. vitulinus* ACU-10 a diferentes pH.

pH	μ_{\max} (h^{-1})	Log DO_{\max}	X ($\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$)
4,5	0,03 ^a ±0,00	-1,23±0,10 [*]	0,00 ^a ±0,00
5,5	0,28 ^b ±0,01	-0,19±0,04	0,21 ^b ±0,02
6	0,24 ^b ±0,02	0,33±0,02	0,72 ^c ±0,04
6,5	0,48 ^c ±0,04	0,36±0,01	0,78 ^c ±0,02
7	0,45 ^c ±0,00	0,36±0,04	0,78 ^c ±0,07
7,5	0,44 ^c ±0,00	0,42±0,04	0,90 ^c ±0,09
8	0,51 ^c ±0,01	0,39±0,02	0,84 ^c ±0,04

Los valores expresan la media \pm la desviación estándar. Para la velocidad de crecimiento μ , y la biomasa final X , dentro de cada columna, los valores medios con diferentes letras de superíndice son diferentes (p <0,05, prueba de Tukey).

En cuanto a los valores de biomasa los mismos muestran un incremento significativo con el aumento del pH hasta el valor de 6,0. No se detectaron diferencias significativas entre los valores hallados a pH superiores a 6,0. Ravyts *et al.* (2009) reportaron tendencias similares para las velocidades de crecimiento y biomasa a diferentes pH para las cepas mencionadas anteriormente y, además *S. xylosus* PA36 no mostró crecimiento a pH 4,5.

En base a los resultados obtenidos, para la producción de biomasa de *S. vitulinus* ACU-10 se establecerá como rango de pH óptimo el comprendido entre 6,0 y 8,0.

Cabe destacar que se encuentra muy poca bibliografía con respecto a la producción de biomasa del género *Staphylococcus* coagulasa negativos, resaltando la necesidad de estudios cinéticos bien controlados que abarquen todos los aspectos necesarios, tanto de factores medioambientales como de componentes nutricionales del medio.

4. Conclusiones

El estudio realizado permitió establecer las condiciones óptimas, tanto de temperatura de incubación como de pH, para la producción de biomasa de *S. vitulinus* ACU-10. Este paso es el primero de una secuencia de estudios que apuntan a la optimización de la producción de biomasa de los microorganismos integrantes del cultivo starter SAS-1; lo cual permitiría transferir esta herramienta a la industria local para mejorar la homogeneidad de los productos cárnicos fermentados tradicionales.

5. Referencias

- Baka, A., Papavergou, E., Pragalaki, T., Bloukas, J., Kotzekidou, P. (2011). *Effect of selected autochthonous starter cultures on processing and quality characteristics of Greek fermented sausages*. LWT - Food Science and Technology, 44: 54-61.
- Bonomo, M., Ricciardi, A., Salzano, G. (2011). *Influence of autochthonous starter cultures on microbial dynamics and chemical-physical features of traditional fermented sausages of Basilicata region*. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 27- 1: 137-146.
- Bonomo, M., Ricciardi, A., Zotta, T., Salzano, G. (2009). *Technological and safety characterization of coagulase-negative staphylococci from traditionally fermented sausages of Basilicata region (Southern Italy)*. Meat Science, 83: 15-23.
- Cachaldora A., Fonseca S., Franco I., Carballo J. (2013). *Technological and safety characteristics of Staphylococcaceae isolated from Spanish traditional dry-cured sausages*. Food Microbiol, 33:61-68
- Drosinos E., Mataragas M., Xiraphi N., Moschonas G., Gaitis F., Metaxopoulos J. (2005). *Characterization of the microbial flora from a traditional Greek fermented sausage*. Meat Science, 69, 307-317.
- Drosinos, E.H., Paramithiotis, S., Kolovos, G., Tsikouras, I., Metaxopoulos, I. (2007). *Phenotypic and technological diversity of lactic acid bacteria and staphylococci isolated from traditionally fermented sausages in Southern Greece*. Food Microbiology, 24: 260-270.
- Hammes W. (2012). *Metabolism of nitrate in fermented meats: the characteristic feature of a specific group of fermented foods*. Food Microbiol 29:151-156
- Janssens, M., Van der Mijnsbrugge, A., Sánchez Mainar, M., Balzarini, T., De Vuyst, L., Leroy, F. (2014). *The use of nucleosides and arginine as alternative energy sources by coagulase-negative staphylococci in view of meat fermentation*. Food Microbiology, 39: 53-60.
- Leroy, F., Scholliers, P., Amilien V. (2015). *Elements of innovation and tradition in meat fermentation: Conflicts and synergies*. International Journal of Food Microbiology, 212: 2-8.
- Martín, A., Colín, B., Aranda, E., Benito, M., Córdoba, M. (2007). *Characterization of Micrococcaceae isolated from Iberian dry-cured sausages*. Meat Science, 75: 696-708.
- Palavecino Prpich, N., Castro, M., Cayré, M., Garro, O., & Vignolo, G. (2015a). *Autochthonous starter culture selection to keep traditions in the manufacture of dry sausages alive*. Annals of Microbiology, 65: 1709-1719.
- Palavecino Prpich, N., Castro, M., Cayré, M., Garro, O., & Vignolo, G. (2015b). *Indigenous starter cultures to improve quality of artisanal dry fermented sausages from Chaco (Argentina)*. International Journal of Food Science, 931970 9 pages.
- Palavecino Prpich, N. Z., Garro, O. a., Romero, M., Judis, M. a., Cayré, M. E., & Castro, M. P. (2016). *Evaluation of an autochthonous starter culture on the production of a traditional dry fermented sausage from Chaco (Argentina) at a small-scale facility*. Meat Science, 115: 41-44.
- Ravyts, F., Vrancken, G., D'Hondt, K., Vasilopoulos, C., De Vuyst, L., & Leroy, F. (2009). *Kinetics of growth and 3-methyl-1-butanol production by meat-borne, coagulase-negative staphylococci in view of sausage fermentation*. International Journal of Food Microbiology, 134(1-2), 89-95.
- Ravyts, F., De Vuyst, L., & Leroy, F. (2012). *Bacterial diversity and functionalities in food fermentations*. Engineering in Life Sciences, 12: 356-367.
- Trinetta, V., Rollini, M., Manzoni, M. (2008). *Development of a low cost culture medium for sakacin A production by L. sakei*. Process Biochemistry, 43: 1275-1280.

Vernam A., and Sutherland J. (1995). *Meat and Meat Products*, Chapman & Hall, London, UK, 1995.

Zwietering, M.H., Jongenburger, I., Rombouts, F.M., van't Riet, K. (1990). *Modeling of the bacterial growth curve*. Applied Environmental Microbiology, 56: 1875-1881.

02TCA. Desarrollo de bebidas analcohólicas con pigmentos naturales antocianos encapsulados

Development of analcoholic drinks with encapsulated natural anthocyanin pigments

María Paula Sancho¹, Cecilia Csernoch¹, Alicia Gallo¹.

1. Universidad Nacional de Luján. Cruce de rutas 5 y 7, Luján. E-mail: mpaulasancho@hotmail.com

Resumen

Las antocianinas forman parte de los pigmentos hidrosolubles naturales que otorgan colores que van del rojo al azul dependiendo del valor de pH y confieren propiedades antioxidantes. Estos pigmentos pueden ser aplicados en bebidas como una opción natural para el reemplazo de colorantes artificiales. El objetivo del presente trabajo es desarrollar una bebida analcohólica dietética con la aplicación de pigmentos antocianos y evaluar su comportamiento a lo largo de la vida útil. Se formuló una bebida analcohólica utilizando los ingredientes y aditivos permitidos con edulcoración no calórica. Se utilizó pigmento liofilizado de zarzamora como colorante en tres concentraciones diferentes y se varió el contenido de acidificante resultando 9 combinaciones totales. Fueron embotelladas, pasteurizadas y almacenadas a temperatura ambiente y exposición a luz solar y artificial durante 60 días. Se determinó pH, acidez, °Brix, capacidad antioxidante y color. Los valores de pH, acidez y °Brix no variaron a lo largo del almacenamiento. La capacidad antioxidante disminuyó a lo largo del tiempo, siendo mayor la pérdida a medida que aumenta la acidez. La luminosidad L* aumenta en todas las muestras durante el almacenamiento, acompañado de una disminución en el parámetro a*. Se seleccionaron las muestras con mejor perfil sensorial preliminar y con el color resultante más atractivo. El uso de pigmentos naturales en matrices líquidas se plantea como una opción, aún cuando la vida útil es acotada, principalmente por su poder antioxidante.

Palabras clave: bebidas, pigmento, antocianinas, estabilidad

Abstract

Anthocyanins are part of natural water-soluble pigments that give colors ranging from red to blue depending on the pH value and confer antioxidant properties. These pigments can be applied in beverages as a natural option for the replacement of artificial colors. The objective of the present work is to develop an analcoholic dietetic beverage with the application of anthocyanin pigments and to evaluate its behavior throughout its shelf life. An analcoholic beverage was formulated using the ingredients and additives allowed with non-caloric sweeteners. Freeze-dried blackberry pigment was used as a dye in three different concentrations and the acid content was varied resulting in 9 total combinations. They were bottled, pasteurized and stored at room temperature and exposed to sunlight and artificial light for 60 days. pH, acidity, ° Brix, antioxidant capacity and color were determined. The values of pH, acidity and ° Brix did not vary throughout the storage. Antioxidant capacity decreased over time, the loss being greater as acidity increases. The luminosity L * increases in all samples during storage, accompanied by a decrease in the parameter a *. The samples with the best preliminary sensory profile and the most attractive resulting color were selected. The use of natural pigments in liquid matrices is considered as an option, even when the useful life is limited, mainly due to its antioxidant power.

Keywords: beverages, pigment, anthocyanins, stability

1. Introducción

Existe gran variedad de pigmentos en la naturaleza correspondientes a distintos grupos químicos. Las antocianinas son el grupo más importante de pigmentos hidrosolubles detectables por el ojo humano y son responsables de la gama de colores que abarcan desde el rojo al azul, dependiendo del valor de pH (Astrid Gastón, G. 2008). Además de su poder tintóreo cuentan con propiedades beneficiosas para la salud, asociadas a su importante actividad antioxidante. Sin embargo, presentan una notable labilidad frente a factores externos o de proceso, deben ser protegidos mediante distintas técnicas de encapsulación y así cumplir su función durante toda la vida útil del producto (Csernoch, C. *et al*, 2017).

Las bebidas analcohólicas corresponden a una amplia categoría que incluyen una gran cantidad de productos de acuerdo a los ingredientes utilizados en su formulación. Si bien en el mundo las tendencias de consumo cambian según los años sin patrones fijos por zonas (Ablin, A, 2014), en nuestro país el consumo de bebidas sin alcohol mostró un crecimiento sostenido durante la última década (Luna, M. 2016), y aunque sigue ocupando el primer puesto en consumo de bebidas carbonatadas del mundo, su consumo se vio reducido por la migración hacia otros productos, como “aguas saborizadas” y jugos en polvo. El Código Alimentario Argentino define a las bebidas sin alcohol en el artículo 996 del Capítulo XII, indicando los ingredientes base, los aditivos permitidos y entre ellos se encuentran los colorantes artificiales. Además de la ventaja de su bajo costo, estas sustancias son estables en las condiciones de estos productos (ph, acidez, exposición a la luz) y su naturaleza artificial permite su estabilidad a lo largo de la vida de la bebida. No obstante, pero su consumo está siendo cuestionado por relacionarse con distintos trastornos como alergias e hiperactividad (Annan, 2010 y Lucas et al 2001). Ante estos cuestionamientos existe una demanda considerable de colorantes naturales aunque ello traiga aparejado el aumento de costo y una posible reducción de la vida útil (Vera de Rosso, V; Mercadante, A.Z. 2007 y Xiaonan, S. *et al*, 2016).

Simultáneamente la creciente inquietud por el cuidado de la salud alineado a recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud, también plantea una necesidad de una reducción del consumo de azúcar. Los productos reducidos en calorías responden a la demanda de productos más saludables. En este marco la combinación de edulcorantes no calóricos también se inclina hacia ingredientes con perfiles diferenciados como

sucralosa y glucósidos de esteviol para integrar nuevas formulaciones.

El objeto del presente trabajo es desarrollar una bebida analcohólica dietética con la aplicación de pigmentos antocianos y evaluar su comportamiento a lo largo de la vida útil.

2. Materiales y métodos

Se emplearon zarzamoras adquiridas en establecimientos locales. Las frutas fueron acondicionadas, trituradas, escaldadas en microondas hasta alcanzar 70°C en el seno de la muestra y luego las pulpas se centrifugaron a 9000 rpm para separar los jugos. Estos se mezclaron con maltodextrinas hasta una concentración final de 30 grados Brix. Las muestras se congelaron durante 24 hs en ultrafreezer a -80°C y se liofilizaron durante 72 hs. Los polvos liofilizados obtenidos se almacenaron en atmósfera de aw:022 hasta su posterior utilización.

La bebida sin alcohol se formuló empleando una base comercial típica para este tipo de productos, que incluye: conservantes, reguladores de acidez, secuestrantes, aromatizantes y edulcorantes no calóricos (Tabla 1). Se prepararon bebidas con tres niveles de acidez equivalente en ácido cítrico anhidro: 0,2 - 0,3 - 0,4% p/v. Estos valores están en el rango de las bebidas comerciales. Se seleccionaron tres dosis de pigmentos liofilizados de zarzamora (1,5 – 3,0 – 6,0 g/l). Las distintas formulaciones fueron embotelladas y divididas en dos series: sin pasteurizar (SP) y pasteurizadas (P) a 90°C en baño termostático, una vez que se alcanzó la temperatura en el seno del líquido, se mantuvieron durante 5 minutos. Las combinaciones así preparadas se resumen en la Tabla 2.

Tabla 1. Fórmula base de bebida analcohólica

Ingrediente	Concentración (g/l)
Agua	Csp 1000 ml
Acidulante	2,0 – 4,0
Pigmento	1,5 – 6,0
Aromatizante (limón – frutilla)	0,8 – 1,0
Conservantes	0,3 – 0,6
Regulador de acidez	0,2 – 0,5
Edulcorantes	0,18 – 0,20
Secuestrante	0,02 – 0,03

Tabla 2. Resumen de combinaciones de acidez y concentración de pigmentos antocianos

	Sin Pasteurizar (SP)		Pasteurizadas (P)	
	Acidez (% p/v)	Pigmento (g/L)	Acidez (% p/v)	Pigmento (g/L)
M1	0,2	1,5	0,2	1,5
M2	0,2	3,0	0,2	3,0
M3	0,2	6,0	0,2	6,0
M4	0,3	1,5	0,3	1,5
M5	0,3	3,0	0,3	3,0
M6	0,3	6,0	0,3	6,0
M7	0,4	1,5	0,4	1,5
M8	0,4	3,0	0,4	3,0
M9	0,4	6,0	0,4	6,0

Las bebidas formuladas pasteurizadas y sin pasteurizar fueron almacenadas a temperatura ambiente bajo luz artificial simulando condiciones de almacenamiento en locales comerciales, durante su vida útil. Se analizaron por un período de 60 días.

Las muestras se caracterizaron físico-químicamente determinando pH, acidez y sólidos totales solubles en las bebidas terminadas. El pH mediante método potenciométrico utilizando un pHmetro de mesada (PH 211 HANNA Instruments, Rumania). Se determinó el contenido de sólidos totales solubles expresado como °Bx, por refractometría, utilizando un refractómetro (HI96801 HANNA instruments, Rumania); y acidez total titulable expresada en % de ácido cítrico anhidro por el método volumétrico según técnica AOAC 2939.05.

Se cuantificó la capacidad antioxidante (CAO) por el método de DPPH (Brand William et al., 1995 modificado por Kim et al., 2002) midiendo la reducción de absorbancia del radical DPPH a 515 nm utilizando 3,5 ml de reactivo y 500 µl de muestra. La actividad antioxidante se expresa como % de inhibición, la cual corresponde a la cantidad del radical DPPH neutralizado por la muestra a una determinada concentración, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Inhibición} = \% I(A - A_1)/A \times 100$$

Se determinó el color empleando un fotocolorímetro Hunter Lab MiniScan EZ, 4500 L, U.S.A. midiendo los parámetros cromáticos del espacio CIELAB (L^* , a^* y b^*).

3. Resultados y Discusión

Los valores de pH y acidez se resumen en la Tabla 3, donde las variaciones de estos parámetros se corresponden con las diferentes concentraciones de ácido cítrico anhidro utilizados en la formulación. No se observan modificaciones apreciables a lo largo del tiempo de almacenamiento.

Tabla 3. Variación de pH y acidez de las bebidas al cabo de 60 días de almacenamiento. (SP: sin pasteurizar, P: pasteurizado)

Acidez titulable (%)	pH inicial (T=0 días)		pH final (T=60 días)	
	SP	P	SP	P
0,2	3,39 ± 0,01	3,33 ± 0,01	3,39 ± 0,01	3,41 ± 0,01
0,3	3,10 ± 0,01	3,01 ± 0,01	3,08 ± 0,01	3,11 ± 0,01
0,4	2,92 ± 0,01	2,81 ± 0,01	2,90 ± 0,01	2,93 ± 0,01

En la Tabla 4 se resumen los sólidos totales solubles correspondientes a formulaciones con diferentes concentraciones de pigmento antociano. No se observaron modificaciones a lo largo del análisis.

Tabla 4. Valores de sólidos solubles totales

Pigmento (g/L)	°Brix inicial		°Brix final	
	SP	P	SP	P
1,5	0,6±0,1	0,5±0,1	0,6±0,1	0,6±0,1
3,0	0,8±0,1	0,6±0,1	0,8±0,1	0,8±0,1
6,0	1,1±0,1	1,0±0,1	1,1±0,1	1,1±0,1

Respecto al comportamiento de la capacidad antioxidante de las formulaciones propuestas, se distingue la condición de pasteurización o sin pasteurización.

Se observan las diferentes formulaciones, en proceso de pasteurización en la Figura 1.



Figura 1. Proceso de pasteurización de bebidas analcohólicas

Aún cuando las formulaciones incluyen concentraciones permitidas y apreciables de conservantes y un valor de pH adecuado que aseguran la ausencia de crecimiento fúngico, desde el punto de vista de la inocuidad, las bebidas hídricas deben ser pasteurizadas.

En las formulaciones desarrolladas pasteurizadas y no pasteurizadas no se observó crecimiento fúngico a lo largo del estudio.

En la Figura 2 se observan las diferentes coloraciones en las bebidas consecuentes con la mayor cantidad de pigmento agregado (1,5 – 3,0 y 6,0 g/l).



Figura 2. Bebidas analcohólicas desarrolladas

Las muestras con mayor porcentaje de pigmentos, 6,0 g/l de antocianina (M3, M6 y M9) son las que resultan visualmente más atractivas, con una coloración rojiza que remite a la fruta original. En la Tabla 5 se analiza la pérdida de la capacidad antioxidante a lo largo de los 60 días de almacenamiento, teniendo en consideración la acidez y el pH de los sistemas elegidos. Cabe destacar que las pruebas preliminares sensoriales muestran una diferencia apreciable en la acidez que fue cuantificada según acidez total titulable, y que sin embargo no se refleja como un cambio notable en los valores de pH.

La capacidad antioxidante disminuye a lo largo del almacenamiento donde las bebidas se exponen a luz artificial y temperatura ambiente, simulando condiciones en góndola. Además se observa una mayor pérdida de capacidad antioxidante a medida que aumenta la acidez.

Tabla 5. Variación de la capacidad antioxidante durante el almacenamiento

Muestra	Acidez (% p/v)	pH	Capacidad antioxidante inicial	Capacidad antioxidante 60 días
M3	0,2	3,40	37±0,1	18±0,2
M6	0,3	3,11	39±0,1	13±0,1
M9	0,4	2,93	38±0,1	11±0,1

M3	0,2	3,40	37±0,1	18±0,2
M6	0,3	3,11	39±0,1	13±0,1
M9	0,4	2,93	38±0,1	11±0,1

Si se analiza la variación de la CAO por tipo de muestra, se evidencia una tendencia decreciente a lo largo del tiempo de almacenamiento. Las muestras con el mayor contenido de antocianinas (M3, M6 y M9) presentan un mayor poder antioxidante, concordante con la concentración del pigmento.

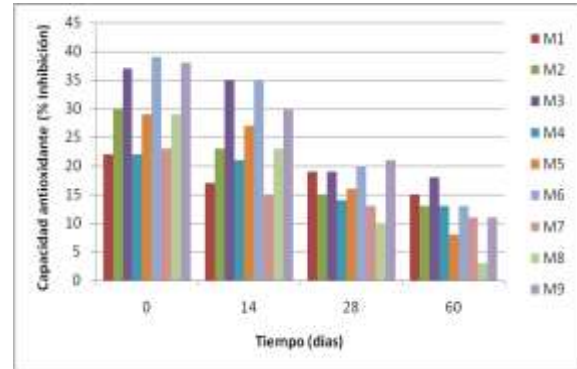


Figura 3. Capacidad antioxidante expresada en bebidas pasteurizadas durante 60 días de almacenamiento para muestras pasteurizadas (% de inhibición)

En la Figura 4 se comparan las formulaciones correspondientes a bebidas pasteurizadas (izquierda) y sin pasteurizar (derecha), donde se evidencia el efecto de los procesos térmicos sobre la coloración.



Figura 4. Efecto del tratamiento térmico sobre el color a los 60 días para muestras con acidez de 0,3 % (p/v)

Las formulaciones con igual concentración de pigmento pero con diferente acidez muestran valores de luminosidad y coordenada cromática a* altos, se evidencia el efecto del pH sobre el pigmento, con un aumento de a* a medida que disminuye este. Al cabo de los 60 días de almacenamiento la luminosidad L* aumenta en todas las muestras, acompañado de una disminución visual de la tonalidad rojiza y ello se ve reflejado en los valores de a* (Tabla 6 y 7).

Tabla 6. Parámetros cromáticos L* a* b* a lo largo del almacenamiento

Muestra	Inicial (0 días)	Final (60 días)
M1	30,5	28,5
M2	32,0	30,0
M3	33,5	31,5
M4	35,0	33,0
M5	36,5	34,5
M6	38,0	36,0
M7	39,5	37,5
M8	41,0	39,0
M9	42,5	40,5

	L*	a*	b*	L*	a*	b*
M3	76,85	11,53	-10,83	81,36	7,29	
M6	74,31	13,66	-8,16	82,02	9,57	-2,94
M9	74,18	16,14	-8,08	81,01	11,50	-2,74

Tabla 7. Parámetros L* y a* para muestras de acidez 0,3% (p/v) a 60 días de almacenamiento

Muestra	L*		a*	
	SP	P	SP	P
M4	82,05	82,77	4,57	4,17
M5	80,65	81,24	6,59	5,50
M6	78,92	79,62	9,39	6,28

4. Conclusiones

Efecto de la acidez sobre el parámetro a* es notorio, a mayor acidez, mayor a*.

La capacidad antioxidante disminuye durante el almacenamiento y esto está en correspondencia con la disminución del parámetro a*, que refleja la pérdida de los pigmentos antocianos a lo largo del estudio.

Aún cuando se pueden preservar las bebidas sin pasteurizar, la recomendación desde el punto de vista de la inocuidad es realizar un tratamiento térmico que genera una disminución de antocianinas pero es fácilmente reparable con un agregado inicial mayor de los polvos encapsulados. Esta práctica es habitual en la aditivación comercial de compuestos lábiles como vitaminas.

En los ensayos sensoriales preliminares la acidez de los productos con mejor perfil corresponde a 0,3% p/v.

El uso de pigmentos naturales en matrices líquidas como las ensayadas se plantea como un uso interesante para el reemplazo de colorantes artificiales. Una vida útil más restringida se ve compensada por el uso de un colorante natural.

5. Referencias

Ablin, A. (2014). "De todo, menos quietud". Alimentos Argentinos en línea. Disponible en: <http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/revista/pdfs/58/BEBIDASORIGINAL.pdf>. Fecha de consulta: 25/9/17

Annan Kofi (2010) *The artificial food Dye Foods*. Environmental Health Perspectives 118 (10).

AOAC, Association of Official Analytical Method. Official Method of Analysis. (1990). USA.

Astrid Gastón, G. (2008). *Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión*. Acta biol. Colombia Vol 13 N°3, 2008 27-36.

Brand-Williams W, Cuvelier M.E., Berset C. (1995). *Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity*. Food Sci Technol. 1995;28:25-30.

Csernoch, C.; Mazzobre M. F. y Gallo, A. (2017). *Estudio cinético de la degradación de pigmentos antocianos de frutillas en matrices confinadas deshidratadas* en VI Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de los Alimentos 2017, Mar del Plata, Argentina.

Giusti, M.; Wrolstad, R.E (2001) *Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy*. In: Handbook of food analytical chemistry. New Jersey: John Wiley & Sons; p. 19-31.

<http://www.anmat.gov.ar>. Código Alimentario Argentino.

Kim JK, Noh JH, Lee S, Choi JS, Suh H, Chung HY, Song YO, Choi WC (2002). *The first total synthesis of 2, 3, 6-tribromo-4, 5-dihydroxybenzyl methyl ether (TDB) and its antioxidant activity*. Bull Korean Chem Soc. 2002;23(5):661-662. doi: 10.5012/bkcs.2002.23.5.661.

Lucas, C.D., Hallagan J.B. y Taylor S.L. *The Role of Natural Colour Additives in Food Allergy*. Adv. Food Nutr. Res 43:195-212 (2001)

Luna, M. (19 de enero de 2016). "Cuáles son las bebidas sin alcohol que más eligen los argentinos". Infobae en línea. Disponible en: <http://www.infobae.com/2016/01/20/1781029-cuales-son-las-bebidas-alcohol-que-mas-eligen-los-argentinos/>. Fecha de consulta: 25/9/17

Vera de Rosso, V; Mercadante, A.Z. (2007). *Evaluation of colour and stability of anthocyanins from tropical fruits in an isotonic soft drink system*. Innovative Food Science and Emerging Technologies 8 (2007) 347-352

Xiaonan S.; Solène B.; Weibiao Z. (2016). *Changes in the color, chemical stability and antioxidant capacity of thermally treated anthocyanin aqueous solution over storage*. Food Chemistry 192 (2016) 516-524

03TCA. Bebidas analcohólicas a base de jugo de naranja: Caracterización físico-química y nutricional, recomendación para consumidores en Argentina

Orange juice based analcoholic beverages: Physicochemical and nutritional characterization, recommendation for consumers in Argentina

Andrea Villarreal¹, Marianela Galeano¹, Consuelo Abbruzzese¹, Liliana Heinrich¹, Alicia Del Valle Gallo¹

1. Universidad Nacional De Luján. Ruta 5 y Avenida Constitución. andreavillarreal_29@hotmail.

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue caracterizar las distintas bebidas analcohólicas a base de jugo de naranja del mercado Argentino, con la finalidad de lograr una recomendación para el público consumidor.

Se analizaron bebidas con distintos porcentajes de jugo de naranja, entre ellos 100%, 50%, 25%, 10% y 2,5%.

Para las distintas muestras comerciales se midieron grados Brix, pH, acidez, color y capacidad antioxidante; y se compararon nutricionalmente a partir de los datos de sus respectivos rótulos. Del análisis de la información se recomienda el consumo de la bebida 100% jugo natural pasteurizado. A diferencia de las demás, la misma es natural, aporta fibra, sin azúcares agregados, aporta naturalmente vitamina C. Si bien su capacidad antioxidante no es la mayor, la misma se atribuye a antioxidantes naturales, en las demás bebidas proviene de las vitaminas agregadas, tales como A, C y E.

En las bebidas formuladas, no hay diferencia significativa en base a los azúcares agregados, en el aporte energético y ninguna aporta fibras. Según el porcentaje de jugo natural y la formulación en vitaminas, la recomendación es la bebida con 50% de jugo de naranja con vitaminas B3 y B6.

Palabras clave: Bebida analcohólicas, jugo de naranja, vitamina C, capacidad antioxidante.

Abstract

The objective of the present work was to characterize the different orange juice based analcoholic beverages from the Argentinian market, in order to achieve a recommendation for the consumers.

There were used beverages with different percentages of orange juice, including 100%, 50%, 25%, 10% and 2.5%.

For the different commercial samples, Brix, pH, acidity, color and antioxidant capacity were measured; and all the samples were nutritionally compared from the data of their respective labels. Based on the information analysis, consume recommendation is prefers pasteurized 100% natural juice. Unlike the others, it is natural, it provides fiber, without added sugars, and natural source of vitamin C. Although its antioxidant capacity is not the greatest, it is attributed to natural antioxidants, while in the other drinks it comes from added vitamins, such as A, C and E.

Differences are not notable between the formulated beverages, based on the added sugars, energy contribution, and none of them provides fibers. According to natural juice percentage and vitamins formulation, we recommend choose beverage with 50% orange juice with vitamins B3 and B6.

Keywords: analcoholic beverages, orange juice, vitamin C, antioxidant capacity.

1. Introducción

A fines del año 2016, entre el 75 y el 85 % de las bebidas formuladas con 100% jugo de fruta, fueron de naranja (Terrile, 2016) y aún continúa ésta tendencia donde los jugos de naranja lideran la categoría. Actualmente, en Argentina, no sólo han surgido nuevas marcas que ofrecen bebidas con 100% jugo de naranja en el mercado sino que han crecido las opciones de bebidas que contienen distintos porcentajes de jugo en su formulación. Estos van desde 2,5% de jugo en adelante y algunas de estas bebidas se encuentran adicionadas con vitaminas y minerales. La fortificación en este tipo de alimento se realiza no sólo para reponer las pérdidas causadas por el procesamiento sino también para combatir los efectos de la carencia de micronutrientes en la población (**Bastías y Cepero, 2016**). **En el mercado se ofrecen bebidas fortificadas tanto con vitaminas hidrosolubles como con liposolubles.** Las bebidas analcohólicas conforman una matriz alimentaria en la cual resulta sencillo incorporar Vitamina C como micronutriente, debido a su hidrosolubilidad, garantizando de este modo su biodisponibilidad. Lo mismo sucede con otras vitaminas solubles en agua como las del complejo B. La incorporación de vitaminas liposolubles (como las A y E) en la matriz es, en cambio, bastante más trabajoso e implica mayor complejidad operacional ya que resulta imprescindible formar una emulsión para que las vitaminas solubles en fase grasa puedan incorporarse en la bebida.

La tendencia de consumo de jugo de naranja se podría indicar que está relacionada con el concepto de naturalidad, la salud y el sabor. Por lo que las industrias formuladoras de bebidas intentan imitar la naturaleza de un jugo de naranja exprimido, en base a su sabor, color y textura.

Sin embargo, las características deseadas con porcentajes de jugo menores a 100% y con el mínimo procesamiento, se obtienen a expensas de un valor nutricional distinto al del jugo natural y con el agregado de ingredientes y aditivos tales como edulcorantes: azúcares o JMAF, conservantes: benzoato de sodio y sorbato de potasio; colorantes: beta caroteno, amarillo oca, amarillo sunset y tartrazina; espesantes: pectinas, CMC y gomas; acidulantes: ácido cítrico y ácido málico; aromatizantes y antioxidantes.

La naranja es uno de los cítricos más utilizados por los consumidores para ingerir en forma de jugo natural debido a las cualidades beneficiosas para la salud. El jugo de naranja es un producto complejo formado por agua, azúcares, ácidos orgánicos, sales minerales, vitaminas y pigmentos, además de una serie de componentes orgánicos volátiles e

inestables responsables de su sabor y aroma (Correa y Faria, 1999).

En lo referente a la legislación para estas bebidas, el Código Alimentario Argentino (C.A.A.) en su Capítulo XII Bebidas hídricas, agua y agua gasificada, define y establece los requisitos en los siguientes artículos: Art. 996 (Resolución Conjunta SPyRS N° 009 y SAGPyA N°106 del 6.03.00) definición de bebidas analcohólicas, Art. 998 (Res N°613, 10.5.88) requisitos para bebidas analcohólicas, Art. 999 (Res N°613, 10.5.88), Art. 1040 (Res N°2067, 11.10.88) definición de jugos vegetales, Art. 1041 (Res N°2067, 11.10.88) definición de jugos vegetales a base de concentrados, Art. 1050 (Res N°2067 del 11.10.88 y Res N°80, 13.01.94) requisitos de los jugos cítricos. Para las bebidas denominadas dietéticas, la definición y los requisitos se establecen en el Art. 1370 (Res 1542, 12.09.90) del Capítulo XVII: Alimentos de régimen o dietéticos.

El objetivo del presente trabajo fue caracterizar las distintas bebidas analcohólicas a base de jugo de naranja del mercado Argentino, con la finalidad de lograr una recomendación para el público consumidor.

2. Materiales y métodos

Se analizaron productos de distintas marcas comerciales argentinas de bebidas analcohólicas a base de jugo de naranja.

Las bebidas seleccionadas, en adelante muestras A, B, C, D, E, F, G y H; cada una con su respectivo porcentaje de jugo fueron:

- A- 100% Jugo de naranja con pulpa natural (pasteurizado, envasado asépticamente).
- B- 100% Jugo de naranja con pulpa natural (elaborado a partir de jugo concentrado de naranja, pasteurizado, envasado asépticamente).
- C- Alimento con 50% jugo de naranja. (pasteurizado, envasado asépticamente). Marca A.
- D- Alimento con 50% jugo de naranja. (pasteurizado, envasado asépticamente). Marca B.
- E- Alimento con 25% jugo de naranja.
- F- Bebida dietética con 10% jugo de naranja.
- G- Alimento líquido con 10% jugo de naranja.
- H- Bebida dietética con 2,5% jugo de naranja.

Las muestras se caracterizaron físico-químicamente a partir de la determinación de:

Sólidos solubles totales: con refractómetro digital HANNA HI 96801 (0 a 85% Brix), los resultados se expresaron en ° Brix.

pH: con pH-metro digital HANNA HI 98191.

Color: se determinaron parámetros a*, b* y L* del sistema CIELab con colorímetro MiniScan EZ Hunterlab.

Acidez Titulable: % de acidez total expresado como ácido cítrico mediante método potenciométrico AOAC Official Method 942.15.

Capacidad antioxidante: con Técnica DPPH (Kim et al., 2002) expresando los resultados como porcentaje de inhibición, lo cual corresponde a la cantidad de radical DPPH neutralizado por el jugo a una determinada concentración. Todas las muestras se analizaron por triplicado.

Se realizó un análisis comparativo de los rótulos de todas las muestras, contemplando en el mismo la denominación de venta, ingredientes y tabla nutricional.

3. Resultados y Discusión

En la tabla I se detallan los resultados obtenidos de la caracterización físico química de las distintas muestras de jugo.

Tabla 1. Caracterización físico-química de bebidas analcohólicas a base de jugo de naranja.

Muestra	° Brix	pH	% Acidez Total
A	11,4 ± 0,2	3,22 ± 0,02	0,79 ± 0,01
B	11,2 ± 0,1	3,85 ± 0,06	0,73 ± 0,01
C	12,3 ± 0,1	3,35 ± 0,02	0,58 ± 0,01
D	12,5 ± 0,2	3,31 ± 0,03	0,69 ± 0,01
E	13,6 ± 0,2	3,05 ± 0,08	0,67 ± 0,01
F	5,1 ± 0,2	3,23 ± 0,03	0,45 ± 0,01
G	8,3 ± 0,2	3,47 ± 0,06	0,35 ± 0,01
H	5,8 ± 0,2	3,07 ± 0,02	0,35 ± 0,01

De los resultados obtenidos se puede indicar que todas las muestras cumplen con los requisitos establecidos por el C.A.A.

Las muestras A y B (100% jugo) presentan los valores requeridos por la normativa, que son característicos del jugo de naranja. El C.A.A. admite un mínimo de 11°Brix para los jugos de naranja (Artículo 1050). En las muestras C, D y E, donde el porcentaje de jugo es menor a cien, el agregado de distintos azúcares tales como azúcar común o jarabe de maíz permite lograr los grados Brix requeridos.

Los valores de pH oscilan desde 3,05 en la muestra E hasta 3,85 en la muestra B.

Los valores de % de acidez total muestran un espectro más amplio, desde 0,35 en las muestras F, G y H hasta 0,79 en la muestra A.

La determinación instrumental de color de jugos de naranja, es importante ya que el color del jugo es una característica que influye sobre otras tales como la percepción del flavor y del dulzor, así como diversos factores relacionados con la aceptación del producto por parte del consumidor (Tepper, 1993).

El color en los jugos naturales proviene de los pigmentos propios de la fruta. En la naranja principalmente se da por los compuestos carotenoides.

Las industrias formuladoras de bebidas hídricas utilizan un rango de colores amarillos y naranjas para simular el color de un jugo de naranja natural, incorporando colorantes naturales o sintéticos tales como beta caroteno, amarillo ocaso, tartrazina, amarillo sunset, etc. Las diversas mezclas de colorantes que se pueden utilizar, generan diferentes tonalidades en los productos comerciales (Figura 1).

En las bebidas formuladas con jugos concentrados, como es el caso de la muestra B, aparecen tonalidades marrones ocasionadas durante la elaboración, donde ocurren dos procesos térmicos, uno es la concentración de jugo y otro la pasteurización del producto terminado, previo al envasado. Debido a estos tratamientos se generan compuestos amarrados por la caramelización de los azúcares y la reacción de Maillard, que tiene lugar por la presencia de proteínas, aunque estas sean mínimas en los jugos vegetales.

Tabla 2. Color en muestras de bebidas analcohólicas a base de jugo de naranja.

Muestra	Color		
	L*	a*	b*
A	68,62 ± 0,16	-0,64 ± 0,04	48,33 ± 0,05
B	65,84 ± 0,11	3,75 ± 0,03	65,1 ± 0,09
C	68,65 ± 0,04	1,18 ± 0,06	48,78 ± 0,09
D	68,52 ± 0,28	0,25 ± 0,06	51,35 ± 0,30
E	66,80 ± 0,14	1,92 ± 0,03	47,79 ± 0,10
F	73,55 ± 0,04	3,91 ± 0,03	23,24 ± 0,04
G	71,45 ± 0,04	8,17 ± 0,03	44,05 ± 0,05
H	72,46 ± 0,05	3,87 ± 0,02	34,39 ± 0,05

En la Tabla 2 se reseñan las coordenadas cromáticas de los productos en estudio. Los elevados valores de L correspondientes a las muestras F, G y H, podrían indicar la presencia de compuestos blanquecinos tales como maltodextrinas, espesantes, etc, que confieren una tonalidad más clara.

Las diferencias encontradas en las coordenadas cromáticas a* y b*, no necesariamente coinciden con las apreciaciones visuales que realiza el consumidor frente a las bebidas. Sólo los productos amarronados, se perciben como “diferentes”.

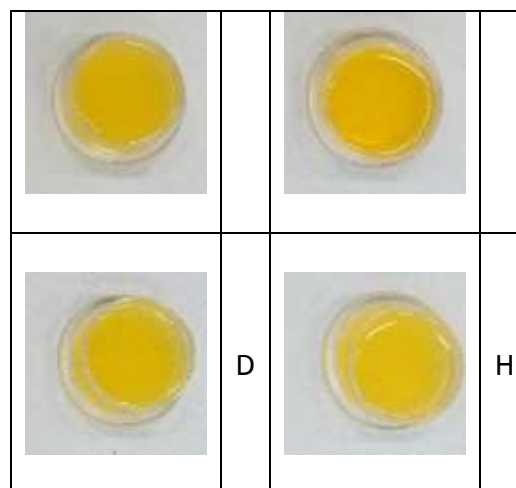
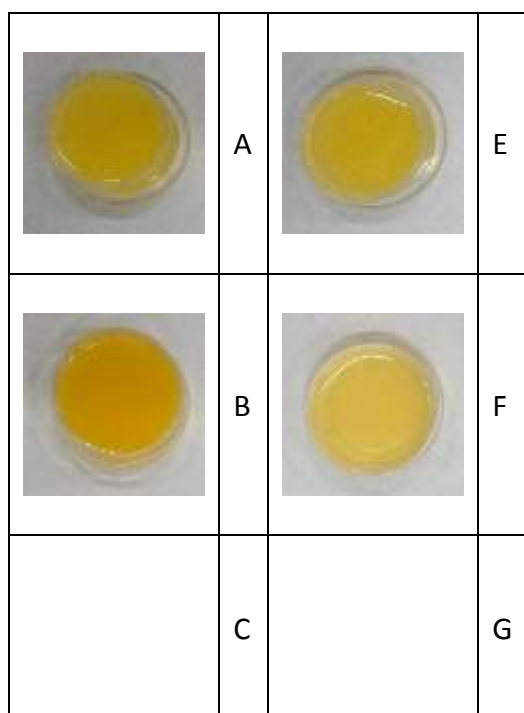


Figura 1. Imágenes de muestras de bebidas analcohólicas a base de jugo de naranja.

Los alimentos identificados como fuente de antioxidantes son las verduras, las hierbas, los cereales y las frutas, de los que se destaca el jugo de fruta y entre ellos el jugo de naranja, debido a que este producto es una fuente importante de flavonoides y una fuente excelente de vitamina C, además de compuestos importantes para la dieta como son ácido fólico y potasio. En la industria alimenticia se utilizan compuestos antioxidantes, como ácido cítrico, para prevenir el deterioro, la rancidez o la decoloración causada por la oxidación. Los jugos que contienen en su formulación este tipo de compuestos presentan una mayor estabilidad de la vitamina C que aquellos jugos naturales sin agregado de antioxidantes (Calderón Hidalgo, 2007).

Los principales compuestos con actividad antioxidante presentes en las distintas formulaciones de las bebidas analizadas son: Vitaminas C, B3, B6, A y E, ácido cítrico, beta caroteno.

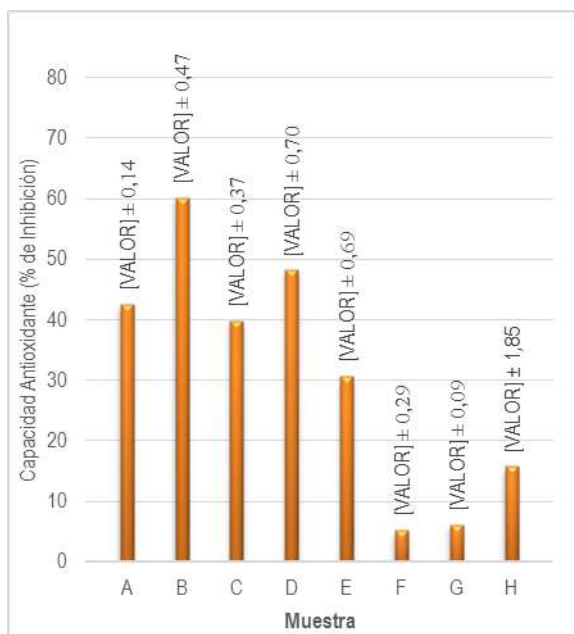


Figura 2. Capacidad antioxidante de bebidas analcohólicas a base de jugo de naranja.

La capacidad antioxidante medida en las muestras se debe a todos los compuestos antioxidantes presentes en su composición. La muestra B exhibe mayor capacidad antioxidante, aunque el contenido de vitamina C no es el mayor, el aporte de las vitaminas A y E es significativo para lograr mayor porcentaje de inhibición de DPPH. La muestra D, sigue en el orden decreciente, en su formulación contiene vitaminas C, B3 y B6. Si bien está formulada con 50% de jugo de naranja, la capacidad antioxidante es mayor por el aporte de las vitaminas.

La muestra A, al ser jugo natural, presenta una alta capacidad antioxidante proveniente exclusivamente de su contenido natural de vitamina C.

Para el resto de las muestras se puede observar que a medida que disminuye el porcentaje de jugo en la formulación, es menor la capacidad antioxidante, debido a que el aporte de antioxidantes por parte del jugo de naranja es menor. Sin embargo, aquellas que contienen otras vitaminas, consecuentemente presentan una mayor capacidad antioxidante. La muestra E, además de vitamina C, presenta estratégicamente en su formulación vitamina E y Zinc, esta última aumenta su acción antioxidante en presencia del mineral (Calderón Hidalgo, 2007).

Tabla 3. Denominación de venta de bebidas analcohólicas a base de jugo de naranja.

Muestra	Denominación de venta
A	Jugo de naranja con pulpa. Libre de gluten. Sin TACC
B	Jugo de naranja con pulpa a base de concentrado fortificado con vitaminas A, C y E. Pasteurizado.
C	Alimento con 50% de jugo de naranja con vitamina C.
D	Alimento líquido con 50% de jugo de naranja con vitamina B3 y B6, sabor naranja.
E	Alimento líquido con 25 % de jugo de naranja, vitaminas C y E y Zinc
F	Bebida sin alcohol dietética con 10 % de jugo de naranja, sabor naranja, sin gas.
G	Alimento líquido con 10% de jugo de naranja con vitaminas B3 y B6 sabor naranja.
H	Bebida sin alcohol dietética con 2,5 % de jugo de naranja, con vitamina C, sabor naranja.

Las muestras cumplen con la legislación según el C.A.A. respecto a la denominación de venta (Tabla 3), a excepción de la muestra H que debería denominarse bebida analcohólica artificial, ya que solo contiene 2,5% de jugo de naranja.

Para la muestra A la denominación es “Jugo de naranja con pulpa. Libre de gluten. Sin TACC” y se encuentra definido en el Artículo 1040 del Capítulo XII (Bebidas Hídricas, agua y agua gasificada) del Código Alimentario Argentino. La muestra B si bien es 100% jugo, tal como la A, es obtenida a partir de un jugo concentrado que se reconstituye con agua para lograr el producto final. En este caso, la denominación es “Jugo de Naranja con pulpa a base de concentrado fortificado con Vitaminas A, C y E. Pasteurizado” y se encuentra definido en el Artículo 1041 del capítulo mencionado anteriormente.

El resto de las bebidas analizadas se denominan “Alimento líquido” o “Bebidas sin alcohol” seguido por el porcentaje de jugo que contienen. En el caso de la muestra F (10% de jugo) debe incluir la palabra “dietética” dentro de su denominación de venta ya que se trata de una bebida reducida en valor energético. La misma se encuentra definida en

el Artículo 1370, inciso c, del Capítulo XVII (Alimentos de Régimen o Dietéticos) del C.A.A.

Tabla 5. Información nutricional de un vaso de 200 ml de bebidas a base de jugo de naranja.

Cantidad por porción (200ml)	A	B	C	D	E	F	G	H
Valor energético (kcal/kJ)	82	100	160	98	104	38	63	39
Carbohidratos (g)	344	430	672	412	438	166	265	164
de los cuales azúcares (g)	19	23	39	24	25	9	15	9
de los cuales azúcares (g)	-	23	-	24	25	8	15	9
Proteínas (g)	1,3	1,6	1,0	ns	ns	0	ns	ns
Sodio (mg)	0	10	44	18	34	35	94	60
Potasio (mg)	-	373	-	-	-	-	-	-
Zinc (mg)	-	-	-	-	1,05	-	-	-
Vitamina A (µg)	-	150	-	-	-	-	-	-
Vitamina B3 (mg)	-	-	-	2,5	-	-	2,5	-
Vitamina B6 (mg)	-	-	-	0,2	-	-	0,2	-
Vitamina C (mg)	69	40	44	45	60	-	-	7
Vitamina E (mg)	-	6	-	-	1,5	-	-	-
Fibra alimentaria (g)	1,1	ns	0	ns	-	0	ns	ns

Tabla 6. Porcentaje de valor diario de nutrientes que aporta a la dieta de un vaso de 200 ml de bebidas a base de jugo de naranja.

%VD	A	B	C	D	E	F	G	H
Valor energético	4	5	8	5	5	2	3	2
Carbohidratos	6	8	13	8	8	3	5	3
de los cuales azúcares	-	-	-	-	-	-	-	-
Proteínas	2	2	1	-	-	-	ns	ns
Sodio	0	1	2	1	1	1	4	3
Potasio	-	-	-	-	-	-	-	-
Zinc	-	-	-	-	15	-	-	-
Vitamina A	-	25	-	-	-	-	-	-
Vitamina B3	-	-	-	15	-	-	15	-
Vitamina B6	-	-	-	15	-	-	15	-
Vitamina C	100	89	25	100	130	-	-	15
Vitamina E	-	60	-	-	15	-	-	-
Fibra alimentaria	4	ns	0	ns	-	0	-	ns

El aporte de energía en estas bebidas se debe principalmente a los carbohidratos. Las muestras F,

G y H, son las que menor valor energético presentan por porción. A su vez F y H son dietéticas ya que no superan las 20 Kcal / cm³ que el C.A.A. indica como requisito para bebidas dietéticas sin alcohol (Artículo 1370 ítem c). En las mismas se utilizan como edulcorantes stevia, acesulfame K y sucralosa en reemplazo parcial de azúcar y/o jarabe de maíz.

A diferencia de las bebidas 100% jugo de naranja, el resto tienen azúcares agregados, los mismos se incorporan a la fórmula con la finalidad de lograr el dulzor y viscosidad deseados. Las muestras con 50% y 25% de jugo tienen más azúcares agregados que las muestras de 10% y 2,5% de jugo. En estas últimas, la formulación no tiene como objetivo imitar un jugo natural, sino lograr una bebida con jugo y sabor naranja con menor aporte energético. Una porción de la muestra C aporta más Kcal respecto de todas las demás y se debe a que presenta mayor cantidad de carbohidratos.

Si bien los aportes de proteínas no son significativos, las únicas que las declaran en su rotulado, son las muestras A y B, 100 % jugo de naranja.

La muestra A es la única que aporta fibras, se debe al contenido de pulpa de naranja en su composición.

La muestra G es la de mayor contenido de sodio, esto se debe a que en su formulación incluye cloruro de sodio y otras sales del mineral como conservante, regulador de acidez y secuestrante.

Respecto al aporte de vitamina C, en la muestra A toda la vitamina presente se debe al aporte natural del jugo de naranja. La muestra E presenta el mayor aporte superando el 100%, pero se debe al agregado de ácido ascórbico en su formulación. El resto de las muestras también contiene vitamina C agregada como ácido ascórbico, a diferencia de las muestras F y G que no presentan.

Sólo las muestras D y G aportan 15% de vitaminas B3 y B6. Y las muestras B y E tiene vitamina E agregada.

4. Conclusiones

Se recomienda el consumo de la bebida analcohólica "A" 100% jugo natural de naranja con el mínimo tratamiento térmico, ya que es totalmente natural, sin aditivos conservantes ni azúcares agregados, contiene pulpa de naranja, aporta fibras y naturalmente, vitamina C. Si bien su capacidad antioxidante respecto de la otra bebida 100% jugo es menor, los antioxidantes son de origen natural. En la bebida B, los antioxidantes son agregados como vitamina A, C y D.

Del resto de las bebidas formuladas, es decir, aquellas con porcentajes variables de jugo de naranja, no hay una diferencia significativa en los

azúcares agregados, y ninguna hace un aporte significativo de fibras. En base al porcentaje de jugo de naranja y a la formulación en vitaminas se recomienda el consumo de la bebida D (50% jugo de naranja) con vitaminas B3 y B6.

5. Referencias

Association of Official Analytical Chemists (1995). AOAC: 942.15: *Acidity (Titratable) of fruit products*.

Bastías, M. J. M.; Cepero, B. Y. (2016). *La vitamina C como un eficaz micronutriente en la fortificación de alimentos*, Artículo de actualización, Departamento de Ingeniería en Alimentos, Facultad de Ciencias de la Salud y los Alimentos, Universidad del Bío Bío, Chillán, Chile.

Calderón Hidalgo, P. (2007). *Determinación de las propiedades antioxidantes de jugos de naranja comerciales sometidos a distintas condiciones de almacenamiento*, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.

Economos, C.D.; Moore, C.E.; Hyatt, R.R.; Kuder, J.; Chen, T.; Meydani, S. N.; Meydani, M.; Klein, E.; Biancuzzo, R.M.; Holick, M.F. (2014). *Multinutrient-fortified juices improve vitamin D and vitamin E status in children: A randomized controlled trial*, Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics, 114:709-717.

Grosso, G.; Bei, R.; Mistretta, A.; Marventano, S.; Calabrese, G.; Masuelli, L.; Gazzolo, D.; (2013). *Effects of vitamin C on health: A review of evidence*, Front Biosci-Landmark.

<http://www.anmat.gov.ar>. Código Alimentario Argentino.

<http://www.fao.org>. FAO, Departamento de Agricultura. *Procesamiento y fortificación de los alimentos*.

Iversen, C. (1999). *Effect of Processing and Storage on Anthocyanin and Ascorbic Acid Content*, J. FoodSci.

Marsanasco M.; Márquez A.; Wagner J. R.; Alonso S. del V.; Chiaramoni N. S. (2011). *Liposomes as vehicles for vitamins E and C: An alternative to fortify orange juice and offer vitamin C protection after heat treatment*, Universidad Nacional de Quilmes, Buenos Aires, Argentina.

Melendez- Martinez, A.; Vicario, L. M.; Heredia, J.F. (2005). *Correlation between visual and*

instrumental color measurement of orange juice dilutions: effect of the background, Food Qual. Pref. 16, 471-478.

Molyneux, P. (2004). *The use the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant*, Sonklanakarín J. Sci. Technol., 26, 211-219.

Pittaluga, J. P.; (2016). *Nuevas tendencias muestran gran potencial para el jugo 100% natural*, <http://envasandoideas.com>. Fecha de consulta: 20 de octubre de 2017.

Schab, M.; Ferreyra, M.; Gerard, L.; Davies, C. (2013). *Parámetros de calidad de jugos de naranja Entrerrianas*, Facultad de Ciencias de la Alimentación, Entre Ríos, Argentina.

Tepper, B.J. (1993). *Effects of a slight color variation on consumer acceptance of orange juice*, J.Sens. Stud.

Terrile, S. (2016). *Bebidas sin alcohol: los jugos puros son los ganadores de la temporada*, <http://www.lanacion.com.ar>. Fecha de consulta: 20 de octubre de 2017.

04TCA. Obtención y caracterización de ensilado químico de residuos de mero (*Acanthistius patachonicus*)

Adriana Fernández Herrero*; Marina Vittone; Andrea Salomone; Daniel Macchiavello y Andrea Fernández Compás.

Programa Desarrollo de Productos, Procesos y Transferencia de Tecnología (PROD)
Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP)
Paseo Victoria Ocampo N°1, Mar del Plata, Argentina
*aherrero@inidep.edu.ar

Resumen

El objetivo fue elaborar y caracterizar ensilados químicos (EQ) preparados con residuos de mero (*Acanthistius patachonicus*) utilizando distintos ácidos y una mezcla de ellos en distintas proporciones. El residuo de mero se trituró y dividió en 4 lotes, a cada lote se le adicionó ácido según los siguientes tratamientos: (I) 3,0% ácido fórmico, (II) 3,5% ácido fórmico, (III) 3,0% mezcla de ácidos (1,8% fórmico: 1,2% fosfórico) y (IV) 3,5% mezcla de ácidos (2,1% fórmico: 1,4 % fosfórico). Se estabilizó el pH en 4,4 en todos los tratamientos. Los EQ se mantuvieron a temperatura ambiente durante 30 días, posteriormente se filtraron para separar espinas y huesos. El contenido de proteínas varió entre 70,19 – 72,36%, extracto etéreo 13,10 – 14,65% y cenizas 11,59 – 12,70%. Se identificaron y cuantificaron dos ácidos grasos omega-3: EPA entre el 1,35 – 1,66 % y, DHA entre el 11,15 – 11,86 %. El valor del NBVT en todos los ensilados fue menor a 115 mg/100 g. Los resultados indican que todos los tratamientos (I, II, III y IV) fueron eficientes para la obtención de ensilados estables. Y la utilización del tratamiento (III) fue la recomendada por presentar menor costo en la producción.

Palabras clave: ensilado químico; mero; valorización de residuos.

Abstract

The aim was to elaborate and characterize chemical silage (EQ) prepared with Argentine seabass waste (*Acanthistius patachonicus*) using different acids, and a mixture of them in different proportions. Residue was crushed and divided into 4 batches. Acid was added to each batch according to the following treatments: (I): 3.0 % formic acid, (II): 3.5 % formic acid, (III): 3.0 % acid mixture (1.8 % formic: 1.2 % phosphoric) and (IV): 3.5 % acid mixture (2.1 % formic : 1.4 % phosphoric). The pH was stabilized at 4.4 in all the treatments. The EQ were kept at room temperature for 30 days, then filtered to separate spines and bones. The protein content varied between 70.19 - 72.36 %, ether extract 13.10 - 14.65 %, and ashes 11.59 - 12.70 %. Two omega-3 fatty acids were identified and quantified: EPA between 1.35 - 1.66 %, and DHA between 11.15 - 11.86 %. The value of the NBVT in all silages was less than 115 mg / 100 g. All treatments (I, II, III and IV) were efficient for obtaining stable silage. The use of the treatment (III) was the recommended one because of the lower production cost.

Keywords: chemical silage; Argentine seabass; waste valorization.

1. Introducción

El género *Acanthistius*, incluido en la familia específica *Serranidae*, está representado por dos especies en el Océano Atlántico Sudoccidental: *Acanthistius brasilianus*, que habita desde 15 °S (Brasil) hasta 36 °S (Uruguay) y *Acanthistius patachonicus*, que se extiende entre 23 °S en Brasil y 48 °S en la plataforma argentina (Villanueva Gomila *et al.*, 2015). *A. patachonicus* conocido con el nombre de mero, se exporta en forma de filet, con y sin piel; descabezado y eviscerado (H&G) o entero congelado. En el mercado interno se comercializa entero o como

filet, fresco o congelado (Cousseau y Perrotta, 2013). Durante su procesamiento y comercialización, se producen residuos orgánicos (recortes de músculo, piel, cabezas, espinas, escamas, huesos y vísceras) que constituyen una fuente importante de proteínas, grasas, minerales y otros compuestos.

Actualmente los esfuerzos encaminados a la posibilidad de dar un uso adecuado a los residuos generados de la pesca y, evitar el impacto que puedan causar al medio ambiente, han llevado a buscar opciones. Entre éstas se halla la producción de ensilado. El ensilado es un producto líquido, su

producción se basa en la acidificación del medio, esto se logra de forma química por la adición de ácidos (orgánicos e inorgánicos) o por medio biológico donde, se requiere de una fuente de carbohidratos y microorganismos que permitan la fermentación láctica y la consecuente disminución del pH (Llanes Iglesias *et al.*, 2011). La tecnología es simple, la inversión es baja, reduce los problemas de contaminación ambiental (olores y aguas residuales), permite el uso inmediato del producto y no necesita refrigeración para su conservación. Las experiencias de ensilados ácidos (orgánicos e inorgánicos) con pescados comenzaron en 1936 en Suecia, desde entonces y a la fecha distintos autores han trabajado en determinar qué ácidos y en qué proporciones son más eficientes para la preparación de ensilados con distintas especies de peces.

Los ácidos orgánicos, como el ácido fórmico, son generalmente más costosos que los inorgánicos, sin embargo producen ensilados menos ácidos y no necesitan ser neutralizados antes de utilizarlos como insumo en alimentos para animales. Por otro lado, el reemplazo parcial del ácido orgánico por un ácido inorgánico, como el ácido fosfórico, es interesante ante la necesidad de disminuir los costos de producción.

Teniendo en cuenta el anterior contexto, el presente trabajo tiene como objetivo elaborar y caracterizar mediante análisis fisicoquímicos y microbiológicos, los ensilados ácidos obtenidos a partir de residuos de mero (*A. patachonicus*), evaluando la utilización de dos ácidos (fórmico y fosfórico).

2. Materiales y métodos

La materia prima, residuos de mero (esqueletos, aletas, cabezas y vísceras) fue suministrada por SENASA. Esta fue acondicionada interfoliada, congelada y posteriormente se transportó al Laboratorio de Tecnología de los Productos Pesqueros del INIDEP. El residuo se trituró en una picadora de carne marca FREIRE (Fig. 1) con una placa perforada (orificios de 4 mm), se mezcló para formar una pasta homogénea y se congeló a - 25 °C hasta su uso.

Como acidificante se utilizó ácido fórmico (85%) y ácido fosfórico (98%), ambos calidad p.a.

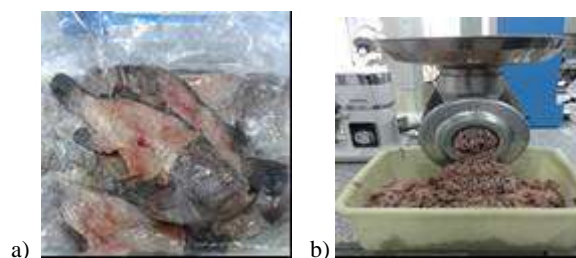


Figura 1. a) residuos de Mero congelados; b) picado de residuos.

Elaboración de los ensilados químicos (EQ) de Mero

Se elaboraron cuatro EQ de acuerdo a la Tabla 1. Los ingredientes fueron mezclados con espátula durante 5 minutos a temperatura ambiente hasta lograr una masa homogénea, posteriormente fueron trasvasados a recipientes con tapa de 2 kg de capacidad y se mantuvieron durante 30 días a temperatura ambiente (entre 22,7 y 25,8 °C).

Tabla 1. Diseño de tratamientos

		ENSILADO QUÍMICO DE MERO (EQ)			
		I	II	III	IV
MP (residuos triturados de Mero)		1 kg	1 kg	1 kg	1 kg
Ácido fórmico	(3,0 % v/p)	30 ml	-	-	-
Ácido fórmico	(3,5 % v/p)	-	35 ml	-	-
Ácido fórmico	(3,0 % v/p)	-	-	18 ml	-
Ácido fosfórico		-	-	12 ml	-
Ácido fórmico	(3,5 % v/p)	-	-	-	21 ml
Ácido fosfórico		-	-	-	14 ml

A fin de lograr una acidificación homogénea, cada EQ se mezcló periódicamente en forma manual con espátula y se midió pH utilizando varillas indicadoras de rango 3,5-7 (marca Merck). Después de 30 días, los EQ se filtraron utilizando un tamiz tyler N° 40 (420 µ) para la separación de espinas y huesos (Fig.2) obteniéndose una fracción líquida (EQL).



Figura 2. Fraccionamiento del ensilado químico (EQ) de Mero

Caracterización de la MP y ensilados

A lo largo del proceso de elaboración de los EQ y en el producto final (EQL) se caracterizaron los cambios en el color, la consistencia y el olor.

Se calculó el rendimiento de las fracciones sólida y líquida (EQL) en porcentaje, en base a los pesos de cada fracción en relación al peso total del ensilado.

Análisis químicos en MP y EQL: El contenido de proteínas se determinó por el método Kjeldahl (utilizando el factor de conversión 6,25), el contenido de agua y de cenizas según AOAC (1995) y el extracto etéreo por el método Randall (AOAC, 1990). Los lípidos totales se determinaron por el método de Bligh y Dyer (1959); los ácidos grasos fueron metilados según Dowd (2012) con modificaciones, y analizados en un cromatógrafo de gases Shimadzu® GCMS-2010, equipado con un inyector *split*, con una columna capilar de sílica fundida Omegawax Supelco® 320 (30 m x 0,32 mm ID, 0,25 µm) y un detector de ionización a la llama (FID).

Para la evaluación de la calidad de la MP y EQL, se determinó el nitrógeno básico volátil total (NBVT) de acuerdo a CEE /149/95 (Consejo de Comunidad Económica Europea). Además, se evaluó la calidad microbiológica determinando: aerobios mesófilos, coliformes totales, coliformes fecales, hongos totales, levaduras totales y *Salmonella* de acuerdo a protocolos estandarizados (Salomone y Peressutti 2017).

3. Resultados y discusión

A lo largo del proceso de elaboración de los ensilados se produce un descenso del pH. En la MP el pH fue de 7,0 y al mezclar la MP con los ácidos disminuyó a 4,0; se mantuvo en ese valor hasta el día 10 en los EQ II y IV (3,5% de ácido); mientras que en los EQ I y III (3,0% de ácido) subió a 4,4. A partir del día 20 todos los EQ presentaron un pH 4,4; valor que se mantuvo hasta el día 30 del ensayo. Durante este proceso se observó a partir del quinto día un aumento gradual de la licuefacción, pasando de una mezcla homogénea de textura pastosa, con apenas exudado de líquido, a una forma líquida con partículas pequeñas (Fig. 3). En el color se observaron leves cambios durante el almacenamiento; al inicio del proceso el color fue beige-rojizo (semejante a carne picada), cambiando a beige claro a los 30 días, no presentando diferencias entre los ensilados. El olor se mantuvo similar en todos los ensilados, comenzó siendo a pescado fresco y pasó a un ácido suave.



Figura 3. EQ de Mero: a) primer día; b) después de cinco días de almacenamiento.

El rendimiento de las fracciones en los EQ varió entre: 79,04 – 80,71 % para la fracción líquida (EQL) y entre: 19,71 – 20,94 % para la fracción sólida (Tabla 2).

Tabla 2. Rendimiento de los ensilados químicos (EQ) de Mero (los valores son el promedio de los duplicados).

RENDIMIENTO DEL ENSILADO QUIMICO DE MERO				
EQ	I (3%)	II (3,5%)	III (3%)	IV (3,5%)
% EQL	79,29	80,71	79,04	80,20
% Sólido	20,71	19,71	20,94	19,80

En la Tabla 3, se presentan los valores de la composición proximal (en base seca) de la MP y los EQL. La composición de la materia prima puede variar por la especie utilizada, la época de captura, desove e inclusive de acuerdo al tipo de residuo utilizado (Areche *et al.*, 1992). La MP contiene un alto porcentaje de cenizas debido a la presencia de estructuras óseas (cabeza y esqueleto).

Tabla 3. Composición proximal (base seca) de MP y EQL de Mero. Cada valor es el promedio de los duplicados ± desviación estándar.

		% P	% E.E	% C	% M.S
MP		65,74 ± 0,69	7,30 ± 0,21	24,61 ± 0,89	24,59 ± 0,31
EQL	I (3,0%)	71,56 ± 0,54	13,28 ± 0,15	12,70 ± 0,61	20,21 ± 0,20
	II (3,5%)	71,68 ± 1,17	14,00 ± 0,63	11,59 ± 0,89	20,97 ± 0,35
	III (3,0%)	72,36 ± 0,62	13,10 ± 0,39	11,68 ± 0,53	19,97 ± 0,09
	IV (3,5%)	70,19 ± 0,14	14,65 ± 0,34	12,36 ± 0,20	21,26 ± 0,24

(P: proteínas; E.E: extracto etéreo; C: cenizas; M.S: materia seca)

La composición proximal de los ensilados químicos depende en general del tipo de materia prima utilizada y de los ácidos que intervienen en el proceso (Tabla 4). En los EQL la composición fue similar en los cuatro tratamientos y el porcentaje de cenizas fue mucho menor que en la MP, debido a que las estructuras óseas fueron retenidas por el tamiz. Los valores hallados en los EQL son similares a los obtenidos por Góngora y Ruiz (2008); Fernández *et al.* (2008) y Anbe (2011) en cuanto al contenido de proteínas y cenizas, mientras que el contenido de extracto etéreo es menor.

Tabla 4. Composición proximal de diferentes tipos de ensilados ácidos de pescado. Los valores son expresados con respecto a la materia seca.

Substrato (residuos)	%P	%EE	%C	%MS	Fuente
<i>Merluccius hubbsi</i>	62,95	20,31	16,21	24,50	Góngora y Ruiz (2008)
<i>Merluccius hubbsi</i>	70,71	18,78	11,43	23,22	Fernández Herrero <i>et al.</i> (2008)
<i>Opisthonema oglinum</i>	17,80	5,70	8,60	32,90	Botello <i>et al.</i> (2010)
<i>Sardinella brasiliensis</i>	65,62	21,23	13,11	31,82	Anbe (2011)
<i>Oreochromis niloticus</i>	36,70	18,60	23,10	32,00	Llanes <i>et al.</i> (2012)
<i>Cyprinus carpio</i>	60,74	9,12	26,85	19,09	Viglezzi (2012)
<i>Epinephelus malabaricus</i>	36,06	12,24	14,04	19,14	Ramasubburayan <i>et al.</i> (2013)

El contenido de ácidos grasos de la MP y los EQL se presenta en la Tabla 5. En los EQL, se identificaron entre 38,70 - 41,98 % ácidos grasos saturados (AGS), siendo los ácidos palmítico

(C16:0), esteárico (C18:0) y mirístico (C14:0) los predominantes. Los ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) representaron entre el 27,45–29,21 %; de los cuales el ácido oleico (C18:1 n9 t y c) y palmitoleico (C16:1) fueron los más abundantes. El porcentaje de ácidos grasos polinsaturados (AGPI) fue entre el 17,89 - 19,06 %, identificándose dos ácidos grasos de la familia omega-3: el ácido eicosapentaenoico (C20:5n3; EPA), entre el 1,35 - 1,66 % y, el ácido docosahexaenoico (C22:6n3; DHA), entre el 11,15 - 11,86 %.

Tabla 5. Perfil de ácidos grasos (g/100g) de MP y EQL de Mero. Cada valor es el promedio de los duplicados ± desviación estándar.

ÁCIDOS GRASOS		MP	EQL			
			I	II	III	IV
Ác. mirístico	C14:0	5,39 ± 0,12	4,54 ± 0,10	3,86 ± 0,03	4,53 ± 0,07	4,41 ± 0,08
	C15:0	0,87 ± 0,01	0,70 ± 0,05	0,64 ± 0,01	0,73 ± 0,03	0,68 ± 0,02
Ác. palmítico	C16:0	32,82 ± 0,35	23,20 ± 0,26	24,02 ± 0,09	25,52 ± 0,02	26,44 ± 0,09
	C17:0	0,96 ± 0,14	0,60 ± 0,00	0,77 ± 0,16	1,23 ± 0,46	0,77 ± 0,02
Ác. esteárico	C18:0	8,77 ± 0,24	6,73 ± 0,20	6,67 ± 0,03	6,88 ± 0,08	6,88 ± 0,02
	C21:0	0,24 ± 0,00	0,30 ± 0,17	0,31 ± 0,03	0,28 ± 0,01	0,27 ± 0,02
	C22:0	1,31 ± 0,02	1,52 ± 0,15	1,38 ± 0,24	1,32 ± 0,04	1,48 ± 0,01
	C23:0	0,68 ± 0,03	1,19 ± 0,08	1,05 ± 0,08	0,88 ± 0,16	1,05 ± 0,11
ΣAGS		51,04	38,78	38,70	41,37	41,98
	C14:1	0,26 ± 0,01	0,24 ± 0,04	0,21 ± 0,00	0,28 ± 0,01	0,23 ± 0,01
	C15:1	0,13 ± 0,01	0,15	0,14 ± 0,00	0,16 ± 0,00	0,15 ± 0,00
Ác. palmitoleico	C16:1	4,45 ± 0,09	5,10 ± 0,22	4,72 ± 0,35	5,59 ± 0,04	5,35 ± 0,12
	C17:1	0,42 ± 0,04	0,64 ± 0,13	0,51 ± 0,03	0,54 ± 0,02	0,43 ± 0,01
Ác. oleico	C18:1n9 t y c	11,78 ± 0,01	13,12 ± 0,25	14,43 ± 0,11	14,33 ± 0,22	14,67 ± 0,02
	C18:1n7	3,05 ± 0,03	3,50 ± 0,70	3,05 ± 0,12	3,31 ± 0,12	3,16 ± 0,03
	C18:1n11	0,24 ± 0,01	0,34 ± 0,06	0,30 ± 0,01	0,32 ± 0,02	0,29 ± 0,01
	C20:1	0,72 ± 0,02	0,51 ± 0,08	0,64 ± 0,01	0,63 ± 0,01	0,56 ± 0,01
	C22:1n9	2,27 ± 0,04	4,48 ± 0,27	3,03 ± 0,07	3,72 ± 0,09	2,77 ± 0,08
	C22:1n11	0,20 ± 0,01	0,51 ± 0,13	0,42 ± 0,00	0,33 ± 0,04	0,39 ± 0,11
ΣAGMI		23,52	28,59	27,45	29,21	28,00
Ác. linoleico	C18:2n6 t y c	0,57 ± 0,02	0,75	0,68 ± 0,01	0,75 ± 0,01	0,64 ± 0,00
	Ác. linolénico	C18:3n6	0,23 ± 0,00	0,38 ± 0,10	0,32 ± 0,01	0,34 ± 0,04
	C18:4n3	0,28 ± 0,01	0,65 ± 0,15	0,47 ± 0,03	0,53 ± 0,04	0,47 ± 0,01
	C18:3n3	2,70 ± 0,07	2,94 ± 0,15	3,29 ± 0,05	3,19 ± 0,02	3,14 ± 0,00
	C20:2 y C20:3	0,34 ± 0,10	0,59 ± 0,13	0,35 ± 0,24	0,68 ± 0,01	0,14 ± 0,08

EPA	C20:5n 3	1,35 ± 0,05	1,66 ± 0,06	1,35 ± 0,07	1,58 ± 0,13	1,40 ± 0,00
Ác. araquidónico	C20:4n 6	0,19 ± 0,01	0,40	0,28 ± 0,06	0,20 ± 0,10	0,20 ± 0,05
DHA	C22:6n 3	10,86 ± 0,00	11,62 ± 0,30	11,15 ± 0,07	11,79 ± 0,12	11,86 ± 0,01
ΣAGPI		16,52	18,99	17,89	19,06	18,16
ΣAG no ident. (%)		5,60 ± 0,51	9,15 ± 2,07	10,39 ± 0,05	6,23 ± 0,40	7,32 ± 0,63

Como parámetro de calidad se evaluó el NBVT. La MP presentó un valor de 21,81 mg N/100 g lo que indica buena calidad (para consumo humano el valor de NBVT en pescados blancos, debe ser menor de 30 mg N/100g). Según Belli Contreras (2009) la concentración crítica de N amoniacal para que un ensilado sea de buena calidad es de 115 a 117 mg/100g. Los EQL registraron valores que los sitúan dentro de la categoría de “buena calidad” (Tabla 6).

Tabla 6. Valores de NBVT en EQL de Mero. Cada valor es el promedio de los duplicados ± desviación estándar.

	EQL			
	ÁC. FÓRMICO		ÁC.FÓRMICO/FOSFÓRICO	
	I (3,0%)	II (3,5%)	III (3,0%)	IV (3,5%)
NBVT (mg N/100g)	112,81 ± 0,4	85,84 ± 0,8	109,29 ± 0,8	81,21 ± 1,5

Los recuentos microbiológicos de la MP y los EQL se muestran en la Tabla 7. El desarrollo de las bacterias aerobias mesófilas totales tanto en MP como en los EQL, presentó valores que están por debajo del nivel máximo permitido para pescado fresco (10^6 UFC/g) e inferiores al límite máximo de 5×10^5 UFC /g para pescado congelado de acuerdo a ICMSF (1986). Coliformes y *Salmonella* no se hallan presentes. Hongos y levaduras no se hallan presentes en los EQL, los valores hallados en la MP están dentro de los rangos permitidos por la normativa del ICA (1999) para alimentos de animales en Colombia ($0,05 \times 10^5$ a $1,0 \times 10^5$ UFC/g). Es importante señalar que Argentina no cuenta con normas que establezcan valores permitidos de microorganismos en desechos de origen acuático para producción de alimentos balanceados.

Tabla 7. Composición microbiana de la MP y EQL de Mero. *(UFC: unidades formadoras de colonias)

	MP	EQL			
		ÁC. FORMICO		ÁC.FÓRMICO/FOSFÓRICO	
		I (3,0%)	II (3,5%)	III (3,0%)	IV (3,5%)
Bacterias mesófilas heterótrofas totales (30°C)	$1,0 \times 10^4$ UFC/g	$6,0 \times 10^3$ UFC/g	$4,5 \times 10^3$ UFC/g	$2,2 \times 10^3$ UFC/g	$1,4 \times 10^3$ UFC/g
Bacterias mesófilas heterótrofas totales (35°C)	$4,1 \times 10^3$ UFC/g	$4,0 \times 10^3$ UFC/g	$3,4 \times 10^3$ UFC/g	$2,2 \times 10^3$ UFC/g	$1,2 \times 10^3$ UFC/g
Coliformes totales	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Coliformes fecales	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>Salmonella</i> spp	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Hongos y levaduras	$0,03 \times 10^3$ UFC/g	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

4. Conclusiones

La utilización del ácido fórmico solo, así como la mezcla de ácidos fórmico y fosfórico, en los dos porcentajes utilizados, fue eficiente para la obtención de ensilados estables a pH 4,4. En esta condición no se produjo crecimiento de bacterias como *E. coli*, hongos, mohos, así como otros microorganismos putrefactivos y patógenos, y también evitó la posibilidad de desarrollo de *Salmonella*. Estos resultados muestran que los ensilados son insumos seguros para ser utilizados en la elaboración de alimentos balanceados. Por otro lado, la utilización de la mezcla de ácidos fórmico:fosfórico al 3% es recomendada para la elaboración del ensilado químico por presentar menor costo en un escalamiento de producción.

Agradecimientos: los autores agradecen a SENASA por aportar el material de estudio (residuos de Mero); al Téc. Pablo Casagrande del INIDEP, por el procesamiento de los residuos de Mero; al Gabinete de Biología Molecular y Microbiología del INIDEP por los análisis microbiológicos.

5. Referencias

Anbe, L. (2011). *Prospecção de componentes bioativos em resíduos do processamento do pescado visando a sustentabilidade da cadeia produtiva*. Tesis de Maestría en Ciencias. Ciencia y

Tecnología de Alimentos. Escuela Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Univ. Sao Paulo. Brasil. 135 p.

AOAC (1990) (Association of Official Analytical Chemist). *Official methods of analysis of AOAC International*. 15th Edition. (Ed.) 3rd Supplement 1992. Arlington, Virginia, USA.

AOAC (1995) (Association of Official Analytical Chemist). *Official methods of analysis of AOAC International*. 16 th Edition. (Ed.) P. A. Cunniff. Arlington, Virginia. USA.

Areche, N.; Berenz, Z; Leon, G. (1992). *Desarrollo de ensilados de residuos de pescado utilizando bacterias lácticas del yogur*. Instituto Tecnológico pesquero del Perú. Informe de pesca. N° 441, Supl. Roma, 52 - 63 pp.

Belli Contreras, J. E. (2009). *Estabilidad aeróbica y día óptimo de uso del ensilado biológico de pescado para la alimentación animal*. Tesis para el título de Médico Veterinario Zootecnista. FMVZ, Universidad Veracruzana. Veracruz, México. 99 pp.

Bligh, E. G.; Dyer, W. J. (1959). *A rapid method for total lipid extraction and purification*. Can. J. Biochem. Physiol. 37:911-917.

Botello León, A.; Toledo Pérez, J.; García Galano, T.; Llanes Iglesias, J.; Lazo de la Vega Tornés, J. (2010). *Conservación in vitro de tres ensilajes de pescado (Opisthonema oglinum). Caracterización físico-química*. Revista Electrónica Granma Ciencia. Vol.14, No.1 Enero-Abril 2010. ISSN 1027-975X

CEE /149/95. Consejo de Comunidad Económica Europea (1995). *Establecimiento de valores límites de nitrógeno básico volátil total NBVT de determinadas categorías de productos pesqueros y los métodos de análisis que deben utilizarse*. Diario Oficial N° L097 del 29/04/1995. 84-87.

Cousseau, M. B.; Perrotta R. G. (2013). *Peces marinos de Argentina: biología, distribución, pesca*. 4a. ed. Mar del Plata: Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero INIDEP. 193 pp.

Dowd, MK. (2012). *Identification of the unsaturated heptadecyl fatty acids in the seed oils of Thespesia populnea and Gossypium hirsutum*. J. Am. Oil Chem. Soc. 89, 1599-1609.

Fernández Herrero, A.; Vittone, M.; Massa, A.; Manca, E. (2008). *Obtención, caracterización microbiológica y físico-química de ensilados*

químicos de merluza (Merluccius hubbsi). En CD de resúmenes: III Simposio de Acuicultura ACUACUBA 2008; II Taller Regional de Producción y Utilización de Ensilados de Pescado para la Alimentación Animal y Taller de Acuicultura Marina". La Habana, Cuba. 15 al 18 de Septiembre de 2008.

Góngora, H. G.; Ruiz, A. E. (2008). *Experiencia piloto de alimentación porcina con Ensilado Químico de Pescado en el Valle Inferior del Río Chubut. Pilot experience of porcine feeding with Chemical Fish Silage in Down Valley of Chubut River*. Naturalia patagónica, 4(1): 118-126.

ICMSF (1986). International Commission on Microbiological Specification for Foods. Microorganisms in Foods 2. *Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Specific Applications*. 2nd Ed.: 181-193.

ICA. Instituto Colombiano Agropecuario. (1999). *Alimentos para animales: parámetros microbiológicos*. Bogotá. pp. 1-3.

Llanes Iglesias, J. E.; Toledo Pérez, J.; Savón Valdés, L.; Gutiérrez BorrotO, O. (2011). *Evaluación nutricional de ensilajes de residuos pesqueros para la alimentación de tilapias rojas (Oreochromis mossambicus x O. niloticus)*. Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras Julio-diciembre, 2011, vol. 28, NO. 2, ISSN 0138-8452, pp.15-20

Llanes Iglesias, J. E.; Toledo Pérez, J.; Savón Valdés, L.; Gutiérrez Borroto, O. (2012). *Caracterización y evaluación del ensilaje de residuos pesqueros como sustituto de la harina de pescado en dietas semi-húmedas para tilapias rojas (Oreochromis mossambicus x O. niloticus)*. Acuacuba vol.14 - n° 2. pp.30-50.

Ramasubburayan, R.; Iyapparaj, P.; Subhashini, K. J.; Chandran, M. N.; Palavesam, A.; Immanuel, G. (2013). *Characterization and Nutritional Quality of Formic Acid Silage Developed from Marine Fishery Waste and their Potential Utilization as Feed Stuff for Common Carp Cyprinus carpio Fingerlings*. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 13: 281-289.

Salomone, A.; Peressutti, S. (2017). *Análisis microbiológicos de ensilados químicos elaborados a partir de residuos de Mero (Acanthistius patachonicus)*. Inf. de Ases. Transf. INIDEP N° en trámite. 4 pp.

Viglezzi, V. (2012). *Elaboración de ensilado químico a partir de desechos de carpa común (Cyprinus carpio) utilizando ácidos fórmico y*

sulfúrico, con su posterior evaluación físico-química, microbiológica y sensorial. Tesis de Licenciatura en Tecnología de los Alimentos con mención en Productos de Origen Animal. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNCPBA. Tandil, Argentina. 51 p.

Villanueva Gomila, L.; Ehrlich, M. D.; Venerus, L. A. (2015). *Early life history of the Argentine sea bass (Acanthistius patachonicus) (Pisces: Serranidae).* Fish. Bull. 113:456–467. DOI: 10.7755/FB.113.4.8.

05TCA. Caracterización bromatológica complementada y determinación de factores tóxicos presentes en dos variedades de verdolaga (*Portulaca oleracea* L.) cruda y cocida.

Complemented nutritional characterization and determination of toxic factors present in raw and cooked forms of two varieties of purslane (*Portulaca oleracea* L.)

Bernardo Lucas¹, Jurassi Luna¹, Robert Bye², Edelmira Linares², Ciro Márquez³.

1. Depto. de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química; 2. Jardín Botánico, Instituto de Biología; 3. Depto. de Ingeniería Metalúrgica, Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. Av. Universidad No. 3000, C.P. 04510. CDMX, México. Correo electrónico: berlucas@unam.mx

Resumen

Se caracterizaron bromatológicamente dos variedades de verdolaga en dos condiciones: cruda y sometidas a cocción. Hay estudios que señalan a *Portulaca oleracea* L. como un recurso vegetal benéfico, por ser fuente de sustancias antioxidantes, proteína y minerales. Sin embargo también es contenedor de factores tóxicos, principalmente oxalatos, fitatos y nitratos. Todos estos componentes sufren cambios derivados de la cocción y se propuso darles seguimiento. La caracterización bromatológica siguió el esquema de Weende; las metodologías para el análisis bromatológico y las determinaciones de digestibilidad proteínica *in vitro*, vitamina C y oxalatos son las aprobadas por la AOAC, ligeramente modificadas; las determinaciones de nitratos y fitatos se realizaron implementando métodos validados. La cocción fue significativa en el contenido de grasa cruda y cenizas, incrementándola y disminuyéndola respectivamente. La disponibilidad de proteína se afectó positivamente tras la cocción. El contenido de minerales fue alto, sin embargo el efecto de la cocción sobre los minerales no fue contundente. El tratamiento térmico promovió disminuciones en los contenidos de vitamina C y los tóxicos analizados. Aun así, las verdolagas se mantuvieron con concentraciones importantes de tóxicos, considerándose, malas fuentes de minerales; sin embargo, si se consumen de manera moderada en forma cocida, puede considerarse segura su ingesta.

Palabras clave: *Portulaca oleracea*, Composición, Cocción, Toxicidad

Abstract

Two varieties of purslane in raw and cooked forms were nutritionally characterized. Recent studies indicate that *Portulaca oleracea* L. is a beneficial plant, a source of antioxidants, protein and minerals. However, it contains toxic factors, mainly oxalates, phytates and nitrates. Because these components suffer changes when cooked, we recommend that purslane be consumed in that form rather than raw. The nutritional characterization carried out according the Weende scheme; the methodologies for the nutritional characterization, the determinations of *in vitro* protein digestibility, vitamin C and oxalates were made according to official methods of analysis of AOAC, slightly modified; the determinations of nitrates and phytates were made according to validated methods. The cooking treatment resulted in significant differences in the content of crude fat, and ashes, increase and decrease respectively. The availability of protein was positively affected after cooking. The mineral content is high; however the effect of the cooking on the minerals was not conclusive. The thermal treatment promoted decreases in the contents of vitamin C and the analyzed toxic factors. Even so, purslane contains high concentrations of toxic factors, which suggest that they are poor sources of minerals. However, if it's consumed moderately in cooked form, purslane is safe to eat.

Keywords: *Portulaca oleracea*, Composition, Cooked, toxicity.

1. Introducción

Desde sus inicios el hombre ha sustentado una lucha continua por satisfacer sus necesidades primarias, dentro de las cuales destaca la alimentación, actividad que seguirá siendo una de las principales del presente y futuro. En México, la dieta de aproximadamente el 70% de la población está basada en alimentos de origen vegetal. Sin embargo, especies no convencionales han quedado marginadas y subvaloradas, aunque muchas de ellas posean un gran potencial alimenticio (INSP, 2012; Mera *et al.*, 2011).

La deficiencia en el aporte calórico-proteínico es uno de los mayores problemas de ciertas regiones rurales de México y requiere que se realicen acciones que aporten alternativas a la problemática a mediano y largo plazo. Referente a lo anterior, la biodiversidad de los recursos vegetales en México es amplia y una alternativa a la problemática mencionada es la revaloración con estudios científicos pertinentes, de los alimentos denominados como no convencionales. (Valle y Lucas, 2000; Mera *et al.*, 2011).

Portulaca oleracea L. conocida en México como verdolaga, es un quelite sumamente versátil, de fácil cultivo, crece bajo condiciones que otras hortalizas no se desarrollan y sus semillas se mantienen latentes por largos periodos en condiciones extremas (Mera *et al.*, 2011). Actualmente hay estudios que la señalan como hierba medicinal, coadyuvante en el tratamiento de enfermedades degenerativas, crónicas o heridas (Abd *et al.*, 2014; Uddin *et al.*, 2014).

La creciente moda alimenticia de buscar el aumento en el consumo de alimentos de origen natural, tan poco procesados como sea posible, ha impulsado a las poblaciones urbanas de México, a considerar consumir las verdolagas en forma cruda, sin un completo conocimiento de los componentes que puedan contener, con el fin de aprovechar al máximo sus beneficios nutritivos. Sin embargo, no hay que perder de vista que estos alimentos suelen ser ricos tanto en nutrientes como en factores tóxicos, e ignorarlos sólo supone un riesgo innecesario (Calco y Mendoza, 2012).

Por lo tanto, se destaca la necesidad de caracterizar los factores tóxicos presentes en la planta de forma natural, ya que dependiendo de la cantidad y frecuencia del consumo de estos recursos vegetales, se puede presentar un efecto adverso a la salud de quienes los consuman. Referente a lo anterior, hay un trabajo previo donde se estudiaron 6 variedades de verdolagas que, si bien se encontró lo que está reportado, de ser una fuente de proteína y minerales como calcio y hierro, también se corroboró la alta concentración de ácido oxálico, ácido fítico y

nitratos; todos estos últimos considerados factores tóxicos, que pueden poner en riesgo al consumidor de este recurso vegetal (Terron, 2016). No obstante, esta evaluación fue en el material crudo y generalmente se realiza la cocción de este recurso vegetal antes de su consumo.

Es de sumo interés observar el efecto de la cocción en las verdolagas, ya que puede tener un efecto benéfico, por la disminución de las sustancias hidrosolubles, como son los factores tóxicos mencionados, así como un efecto negativo al disminuir algún nutriente inestable a las condiciones de tratamientos con calor convencionales.

El objetivo general del trabajo es determinar la composición y complementación bromatológica de dos variedades de verdolaga (*Portulaca oleracea* L.), así como la determinación de los factores tóxicos presentes en este recurso vegetal, antes y después de un tratamiento convencional (cocción), para analizar y comparar las ventajas y desventajas de un procesamiento tradicionalmente utilizado para el consumo de este recurso vegetal.

De forma particular se pretende realizar el análisis bromatológico a las muestras de verdolaga, determinar el contenido de algunos minerales como hierro y calcio, valorar la digestibilidad proteínica *in vitro* y cuantificar Vitamina C, así como la cuantificación de ácido oxálico, ácido fítico y nitratos; observando los efectos de la cocción sobre los resultados con respecto al material crudo.

Finalmente comparar ambas condiciones con el fin de definir, de acuerdo al balance de riesgo-beneficio, cual alternativa de consumo de la verdolaga es más segura y nutritiva.

2. Materiales y métodos

2.1 Material de Trabajo: El material biológico (MB) fue proporcionado por investigadores del Instituto de Biología de la UNAM, quienes son colaboradores del presente proyecto, proporcionando dos variedades, una proveniente de Nepantla, Estado de México y la otra de Mixquic, delegación Tláhuac de la Cd. de México.

2.2 Acondicionamiento y cocción del MB: Cada variedad de verdolaga se dividió en tres partes. Una fracción se sometió a cocción, la cual se llevó a cabo considerando un volumen de 2 litros de agua por cada kilogramo de muestra fresca; el material se colocó en calentamiento hasta que alcanzó la temperatura de ebullición (93°C en la Ciudad de México) y se mantuvo en ebullición hasta que presentó la consistencia típica de su consumo, aproximadamente en 20 minutos, se recolectó el

material cocido y se descartó el agua de cocción. Otra parte se mantuvo cruda. Después de los acondicionamientos mencionados, estas dos partes fueron deshidratadas en estufa de secado con circulación forzada (LAB-LINE, modelo Imperial-III) a $55 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas. La tercer parte fue sometida directamente, sin ningún tratamiento de cocción, a deshidratación por medio de liofilización en un equipo LABCONCO, modelo FreeZone 4.5, con el fin de evitar que el calor promoviera la disminución del ácido ascórbico que se pretendía cuantificar. Una vez tratadas según correspondiera las 3 partes, estas fueron fraccionadas en un molino de laboratorio con cuchillas de acero inoxidable, Thomas-Wiley, modelo 4 a un tamaño de partícula de 1 mm, obteniéndose las harinas respectivas.

2.3 Análisis bromatológico complementado:

Se realizó el análisis proximal de las muestras en forma de harina, según el esquema de Weende siguiendo las metodologías propuestas por la AOAC con ligeras modificaciones (Horwitz y Latimer, 2006). Para complementar el análisis anterior, se realizó la determinación de vitamina C por una valoración volumétrica, basada en la reacción de óxido-reducción del diclorofenol-indofenol por acción del ácido ascórbico (Helrich, 1990); en tanto que la digestibilidad proteínica *in vitro*, se determinó mediante un método multi-enzimático, que emula condiciones digestivas y se monitorea el pH para conocer el grado de digestión aparente de la proteína (Horwitz y Latimer, 2006). Las dos metodologías mencionadas con ligeras modificaciones, son las aprobadas por la AOAC.

2.4 Cuantificación de minerales: Para la determinación de minerales se utilizó la técnica de espectroscopía de emisión atómica con plasma por acoplamiento inductivo (ICP-OES) (Hansen *et al*, 2013). La preparación de muestra se realizó a partir de las harinas de verdolaga, en un horno de microondas Perkin-Elmer, modelo Titán MPS y la cuantificación se llevó a cabo en un espectrómetro de emisión atómica ICP-OES Perkin-Elmer, modelo 4300DV. La anterior metodología analítica, se realizó en el departamento de Ingeniería Metalúrgica de la Facultad de Química, UNAM, donde se cuenta con la infraestructura para esta determinación.

2.5 Determinación de factores tóxicos: La cuantificación de ácido oxálico se realizó mediante una valoración permanganométrica del oxalato de calcio precipitado tras su previa extracción en medio ácido (Helrich, 1995); en tanto que para la cuantificación de los otros dos factores tóxicos, nitratos y ácido fítico, éstas se realizaron por métodos espectrofotométricos; así, los fitatos se cuantifican tras previa purificación del extracto acuoso ácido, en columna de intercambio iónico y los nitratos sólo llevan una extracción acuosa antes

de la formación del respectivo cromóforo. Ambos métodos han sido validados para muestras biológicas de origen vegetal (Cataldo *et al*, 1975; Sotelo *et al*, 2003).

3. Resultados y Discusión

Se obtuvieron los resultados del análisis proximal de las variedades de verdolagas crudas y cocidas, como se muestra en la **tabla 1**, donde se puede apreciar que el tratamiento térmico provocó cambios en la composición de las verdolagas.

Tabla 1. Análisis proximal de las harinas de verdolagas crudas y cocidas.

Componente	Variedad/tratamiento			
	Mixquic Cruda	Mixquic Cocida	Nepantla Cruda	Nepantla Cocida
Humedad (%) ^a	5,83 ± 0,23	6,32 ± 0,02	6,57 ± 0,13	5,36 ± 0,18
Grasa cruda (%) ^{ac}	1,38 ± 0,06	2,11 ± 0,04	1,39 ± 0,08	2,14 ± 0,07
Fibra cruda (%) ^a	13,42 ± 0,10	13,28 ± 0,18	15,64 ± 0,14	15,53 ± 0,16
Cenizas (%) ^{ac}	24,28 ± 0,32	14,34 ± 0,17	29,97 ± 0,94	15,49 ± 0,06
Proteína cruda (%) ^a	22,38 ± 0,41	23,49 ± 0,18	17,79 ± 0,88	19,36 ± 0,58
Hidratos de Carbono(%) ^b	32,71	40,47	28,66	42,12

^a Se presenta el valor promedio de la determinación ± desviación estándar (n=3), CV<5%

^b Calculados por diferencia, según el esquema de Weende.

^c Presenta diferencia estadística significativa entre tratamientos (cruda y cocida) en ambas variedades, prueba t student (p<0,01).

Se determinó el contenido de grasa en las muestras y, pese a que es el componente minoritario en las verdolagas, se encontró diferencia significativa en el contenido de este nutriente entre las verdolagas crudas y cocidas, ya que ambas variedades aumentaron su contenido de grasa después de haberse sometido a cocción. Esto se observa debido a que las plantas contienen lípidos, no sólo en forma libre, si no también formando estructuras complejas y resistentes. Un ejemplo son las ceras epicuticulares, que se superponen en la superficie de las hojas verdes y las protegen, y se presentan en estructuras similares a las secundarias y terciarias de las proteínas. El tratamiento térmico de cocción promovió que dichas formaciones y otros aglomerados lipídicos perdieran rigidez y, al someterse a la extracción con el disolvente, el rendimiento fuera mayor que en la extracción de las muestras crudas (Charters y Evershed, 1997). No se descarta que tras este fenómeno de aumento en el contenido de grasa, también se encuentre mayor riqueza en ácidos grasos poliinsaturados, de tanta relevancia en las verdolagas, como son los $\Omega 3$ y $\Omega 6$ (n-3 y n-6), por lo que son necesarios estudios más específicos que caractericen la grasa presente antes y

después del tratamiento térmico como es la cocción (Uddin *et al.*, 2014).

La fibra cruda no muestra diferencias significativas para las muestras crudas y cocidas. Los valores nos señalan que las muestras contenían una importante proporción de tallos además de hojas, lo que refleja la forma de consumo de las verdolagas pues con esos estándares se acondicionó la muestra antes de los tratamientos. Se han demostrado ampliamente los beneficios del consumo moderado de fibra en la dieta, sin embargo el método para determinar fibra cruda es drástico y no logra cuantificar los oligo y polisacáridos no digeribles, componentes de la fibra dietética, que es la fracción con mayor acción benéfica sobre el organismo. Es de interés conocer el contenido de fibra dietética, sin que afecte el tratamiento de cocción (Sungsoo y Dreher, 2001).

Se notaron importantes cambios en las cenizas, observándose que en el material crudo, este componente compite en cantidad con el componente mayoritario que son los hidratos de carbono; sin embargo, las cenizas tras la cocción disminuyen, confirmándose está diferencia estadísticamente significativa. Estos altos valores son un importante indicador de la riqueza de minerales presentes en las verdolagas, pero su drástica disminución tras la cocción, sugiere que bastante de ese material inorgánico es soluble en agua y se quedó en el agua de cocción (sales hidrosolubles); además denota que aun con el lavado de la muestra antes de cualquier procedimiento analítico, cantidades importantes de contaminación física aún estaban presentes en la planta y fueron retirados en la cocción.

No se encontró diferencia significativa entre las muestras crudas y cocidas para ambas variedades en el contenido proteínico. Son de los componentes mayoritarios de las muestras y representan el macronutriente de mayor relevancia desde el punto de vista nutricional. Aproximadamente el 70% de la población en México basa su dieta en alimentos de origen vegetal. El creciente problema de desnutrición en el país es debido en parte a la deficiencia proteínica y se da principalmente en zonas marginadas, por lo que las cantidades determinadas de contenido proteínico en estas variedades de verdolaga, no se ven afectadas por la cocción, lo cual es un resultado nutritivo positivo, para la forma tradicional de consumo.

Los hidratos de carbono son el componente mayoritario en estas muestras, dando un panorama general del aporte de hidratos de carbono digeribles en el alimento, pero no hay que olvidar que es un valor calculado sobreestimado, pues estos valores se obtuvieron por diferencia e incluyen la fibra soluble que es parte de los hidratos de carbono no digeribles (fibra dietética), algunos de los cuales se les ha dado

un carácter nutracéutico (Sungsoo y Dreher, 2001). Se observan de la **Tabla 1**, una importante diferencia en el contenido de hidratos de carbono entre las muestras crudas y cocidas. Ya que este no es un método de cuantificación directo, sino que depende de los demás datos del análisis proximal y estas diferencias se explican si retomamos lo analizado en las cenizas. La importante disminución en la cantidad de cenizas de muestras crudas a cocidas afecta a la cantidad de hidratos de carbono que se calculan al final.

Complementando a la determinación de proteína, se determinó la digestibilidad proteínica *in vitro* para las dos variedades de verdolaga; esta determinación tiene la intención de predecir la disponibilidad de la fracción proteínica de las variedades de verdolagas evaluadas. Estos resultados se presentan en la **Tabla 2**

Tabla 2. Digestibilidad proteínica *in vitro*.

Determinación	Variedad/tratamiento			
	Mixquic Cruda	Mixquic Cocida	Nepantla Cruda	Nepantla Cocida
Digestibilidad <i>in vitro</i> (%) ^a	70,40 ± 0,40 ^b	72,11 ± 0,38 ^b	71,36 ± 1,25	71,58 ± 0,28

^a Se presenta el valor promedio de la determinación ± desviación estándar (n=3), CV<5%.

^b Presenta diferencia estadística significativa entre tratamientos (cruda y cocida), prueba t student (p<0,05).

Esta determinación se llevó a cabo teniendo en cuenta la incompleta disponibilidad de este nutriente para el organismo (Schaafsma, 2000). La digestibilidad proteínica en la variedad de Nepantla no se modifico por el tratamiento; mientras que la variedad de Mixquic, si se mejoro ligeramente por el cocimiento, como se puede observa de la **Tabla 2**, mostrando diferencia significativa entre tratamientos, indicando que la cocción es benéfica para la biodisponibilidad de las proteínas en esta variedad. Al igual que el efecto observado en las grasas, el tratamiento térmico promovió que las estructuras proteínicas perdieran resistencia y fueran más susceptibles a las enzimas de la digestión. Aunque en este estudio no se analizaron agentes antinutricionales como inhibidores de tripsina, ya que se demostró que no son significativos en esta especie (Terron, 2016), se sabe que estos compuestos tienen fracciones termolábiles que se inutilizaron tras el tratamiento térmico, aumentando la disponibilidad de las proteínas presentes con respecto a las muestras crudas.

Los valores de todas las muestras se encuentran alrededor del 71%, que son bastante aceptables, pues la digestibilidad proteínica típica de alimentos de origen vegetal fluctúa entre 60-80% (Swaigood y Catignanni, 1991).

El contenido de minerales presentes en la muestra podía estimarse considerando las cenizas. El valor obtenido de este parámetro señalaba un contenido alto de minerales. A continuación en la **tabla 3** se presentan los datos obtenidos de la determinación de minerales. Se observa que, el contenido de minerales varía mucho tras la cocción.

Tabla 3. Determinación de minerales.

Mineral	Variedad/tratamiento			
	Mixquic Cruda	Mixquic Cocida	Nepantla Cruda	Nepantla Cocida
Calcio ^a	2.550	3.540	1.640	1.630
Cobre ^a	1	1,5	2,4	2,8
Hierro ^a	452	98	525	184
Zinc ^a	1,4	5,9	3,4	--- ^b

^a Expresados en mg/100g de muestra.

^b Fuera del límite de detección.

El contenido de cobre y zinc aumentó tras el tratamiento, con excepción de la variedad de Nepantla para el zinc; mientras que las muestras perdieron hierro al someterse a cocción. El efecto de la cocción sobre el calcio es variable, como puede observarse, ya que en la variedad Mixquic aumentó tras la cocción y en la de Nepantla prácticamente no se vio afectado.

En la literatura se ha encontrado que el contenido de hierro para verdolaga en base seca es desde 33 mg/100 g hasta 232 mg/100g; el zinc se encuentra dentro de un rango de 1.9 a 2.84 mg/100g; el cobre no se determina con frecuencia pero se reportan 1.89 mg/100 g; y para calcio el rango es de 1000 - 1800 mg/100g (Gonella *et al*, 2010; Abd *et al*, 2014; Alam *et al*, 2014).

Conociendo lo anterior, se puede considerar que las muestras no son deficientes en minerales, pues a excepción del contenido de zinc en la muestra de Nepantla cocida, los valores obtenidos se encuentran dentro de lo esperado o lo supera; sin embargo hay detalles importantes por señalar, como es el caso de factores tóxicos que quelan cationes y los acumulan en la planta conforme ésta madura, por lo que se podría explicar hasta cierto punto los resultados obtenidos (Noonan y Savage, 1999).

No se descarta que el agua para cocción haya interferido con la determinación, tanto solubilizando y retirando minerales de la muestra como aportándolos, ya que el método utilizado es muy sensible (hasta ppm) pero también es muy drástico, y la digestión destruye toda materia orgánica presente, incluidos los tóxicos, y deja “desnudos” a los cationes para su posterior cuantificación, independientemente de su origen. Es recomendable realizar más estudios al respecto, optimizando

métodos de lavado y aumentando la exigencia en cuanto a la pureza del agua para cocción o considerarla en el análisis.

La determinación de vitamina C se llevó a cabo en las muestras crudas liofilizadas y las cocidas, debido a la baja estabilidad del ácido ascórbico (Thompson *et al*, 2011). Los resultados obtenidos se muestran en la siguiente **tabla 4**.

Tabla 4. Determinación de Vitamina C.

Determinación	Variedad/tratamiento			
	Mixquic Liofilizada	Mixquic Cocida	Nepantla Liofilizada	Nepantla Cocida
Vitamina C (mg/100g) ^{a b c}	18,181 ± 0,74	4,850 ± 0,43 ^b	13,965 ± 0,43	4,849 ± 0,43 ^b

^a Se presenta el valor promedio de la determinación ± desviación estándar (n=3), CV<5%.

^b Límite de detección.

^c Presenta diferencia estadística significativa entre tratamientos (cruda y cocida) en ambas variedades, prueba t student (p<0,01).

Como se esperaba, el contenido de Vitamina C en las muestras cocidas es apenas una fracción de su contenido original. El contenido de este compuesto en las muestras liofilizadas es cercano al reportado, que es de 21-27 mg/100g (Uddin *et al*, 2014). La diferencia con respecto al valor reportado se debe a que se almacenó la muestra ya molida, en forma de harina, lo que aumento la superficie de contacto de la muestra con agentes oxidantes, mermando su concentración. El tratamiento térmico disminuyó considerablemente la cantidad de ácido ascórbico presente en la muestra. Por lo que se puede considerar que las muestras sin tratamiento térmico son una buena fuente de esta vitamina que también funciona como antioxidante, al contrario de las muestras cocidas.

Finalmente en la **tabla 5** se presentan los resultados obtenidos para la determinación de los factores tóxicos analizados.

Tabla 5. Determinación de factores tóxicos en harinas de verdolagas crudas y cocidas.

Factor tóxico	Variedad/tratamiento			
	Mixquic Cruda	Mixquic Cocida	Nepantla Cruda	Nepantla Cocida
Oxalatos (%) ^{a b}	10,57 ± 0,17	7,24 ± 0,29	8,49 ± 0,38	6,60 ± 0,32
Fitatos (%) ^{a b}	2,16 ± 0,02	1,95 ± 0,01	2,25 ± 0,01	1,59 ± 0,02
Nitratos (%) ^{a b}	6,88 ± 0,06	2,31 ± 0,01	5,75 ± 0,03	1,60 ± 0,03

^a Se presenta el valor promedio de la determinación ± desviación estándar (n=3); CV<5%.

^b Presenta diferencia estadística significativa entre tratamientos (cruda y cocida) en ambas variedades, prueba t student (p<0,01).

En la literatura, los valores reportados de oxalatos se encuentran desde 2.5 hasta 15%, por lo tanto las muestras analizadas son altas en oxalatos para el

promedio (Noonan y Savage, 1999; Savage, 2007; Uddin *et al*, 2014).

Lo anterior se relaciona con la cantidad de cenizas y de minerales. Como ya se discutió, se esperaba una importante cantidad de compuestos quelantes de minerales dados los resultados obtenidos en la determinación de hierro y calcio principalmente. Además se aprecia que la muestra Mixquic es considerablemente mayor en el contenido de oxalatos que Nepantla, lo que nos habla de una planta más madura y/o una muestra más contaminada, además de los inherentes efectos de las condiciones de cultivo (Noonan y Savage, 1999).

Como se describe en la tabla 5, se encontró diferencia significativa en las muestras cocidas respecto a las crudas. El tratamiento térmico es efectivo en la reducción de este agente antinutricional, pues lo redujo cerca del 30%.

La importancia del contenido de oxalatos radica en su alta capacidad para secuestrar calcio mermando su biodisponibilidad. Una forma de cuantificar el efecto negativo de éstos, es determinar la relación equivalente molar entre ácido oxálico y calcio para definir si la muestra en cuestión es buena fuente de calcio o no (Deshpande, 2002). Los valores de esta relación fueron los que a continuación se presentan.

Tabla 6. Relación oxalato/calcio.

Variedad/tratamiento			
Mixquic Cruda	Mixquic Cocida	Nepantla Cruda	Nepantla Cocida
3,64	2,50	2,93	2,28

La **tabla 6** muestra que todos los valores son mayores a 1, lo que significa que las muestras no sólo son mala fuente de calcio, sino que además aportan suficientes oxalatos para secuestrar calcio exógeno a las verdolagas. La cocción disminuyó este valor, pero no lo suficiente como para considerar a las muestras exentas de cierto riesgo referente a este agente antinutricional.

El fitato es reconocido como la forma de almacenamiento principal de fósforo e inositol en plantas, así como de algunos cationes, grupos fosfatos que funcionan como antioxidantes. El ácido fítico tiene mayor presencia en leguminosas, cereales y semillas en general, aunque también se encuentran en plantas de hoja verde y aumentan su concentración conforme la planta madura. Estos recursos vegetales son de alto consumo en países en vías de desarrollo como México, donde la alimentación sobre todo en poblaciones de bajos recursos, está basada en alimentos de origen vegetal, por lo que aumenta el riesgo de esta población en ingerir ácido fítico en la dieta (Rickard y Thompson, 1997; Bohn *et al*, 2008; Fekadu y Ratta, 2014).

El ácido fítico es considerado un agente antinutricional, principalmente por su capacidad para secuestrar cationes y proteínas. Su actividad es dependiente del pH y presenta su mayor actividad dentro de los rangos de pH de la digestión. Los complejos que forma con Zn y Ca son especialmente insolubles y son la causa de decremento en la biodisponibilidad de estos minerales. Al mismo tiempo, se han observado efectos hipolipidémicos y hipoglucémicos relacionados al ácido fítico. Estos efectos se deben en parte a la capacidad inhibitoria de amilasas, lo que merma la digestión y metabolismo de hidratos de carbono; así mismo este decremento en el metabolismo de hidratos de carbono disminuye las concentraciones de glucosa e insulina en torrente sanguíneo, lo que deriva en menor producción hepática de lípidos. Además se ha demostrado en estudios *in vivo* la disminución directa de colesterol y triglicéridos plasmáticos al introducir a la dieta ácido fítico (Rickard y Thompson, 1997).

No hay muchos estudios sobre el contenido de ácido fítico en verdolaga, pero de los pocos en los que se menciona el contenido reportado es de 0.8-0.9% (Aberoumand, 2011 y Aberoumand, 2012); mientras que los valores determinados para las variedades de Mixquic y Nepantla se encuentran muy por encima de los pocos valores determinados hasta ahora. Estos elevados datos nos señalan de nuevo la madurez de las plantas y no obstante que se encontró diferencia significativa entre las muestras crudas y cocidas, el valor de las muestras cocidas siguen sin ser lo bastante bajos y aun rebasa los valores reportados.

Los efectos del ácido fítico pueden ser benéficos o dañinos, dependen de la dieta completa del consumidor. Si la dieta es deficiente en minerales y proteínas, el ácido fítico tendrá efectos adversos al secuestrar las bajas concentraciones de estos nutrientes; en cambio si la dieta aporta las adecuadas cantidades de minerales y además es rica en hidratos de carbono y lípidos, su efecto será benéfico por lo discutido anteriormente.

Las muestras estudiadas tienen contenidos de nitratos bastante por encima del mínimo reportado en la literatura; se reporta que la verdolaga es una planta rica en nitratos, supera normalmente el 4.21% en base seca (Gonella *et al*, 2010).

Una vez más, los valores elevados en esta determinación son clara señal de la madurez de la planta; así mismo, la cantidad de nitratos presentes en las plantas se ven alterados por el uso indiscriminado de fertilizantes.

Los nitratos y oxalatos están relacionados, por un mecanismo sinergista aun no muy detallado, pero se reporta que a mayor disponibilidad de nitratos, la

planta incrementa su síntesis de oxalatos (Noonan y Savage, 1999). Entonces se espera que si hay alto contenido de uno de estos factores tóxicos, se refleje en el otro. Si se retoma la **tabla 5**, se puede apreciar que esta observación se mantiene, ya que la muestra procedente de Mixquic tiene mayor contenido de nitratos, así como de oxalatos, que la variedad de Nepantla, lo que concuerda con lo antes expuesto. La cocción fue muy efectiva para disminuir este agente tóxico, pues lo disminuyó prácticamente en un 70%.

Hay que tener presente que todos los resultados expuestos se determinaron en la verdolaga en forma de harina y una forma de consumo que se está promoviendo de este recurso vegetal es en fresco; por lo tanto, se debe considerar la humedad original, la cual se presenta en la **tabla 7**, donde se observa un contenido superior al 90%, valores que se encuentran dentro de lo esperado para el material en fresco. Para conocer la concentración real de componentes que se consumirían hay que considerar la cantidad de agua del material.

Tabla 7. Humedad original

Componente	Variedad/tratamiento			
	Mixquic Cruda	Mixquic Cocida	Nepantla Cruda	Nepantla Cocida
Humedad (%) ^a	94,37 ± 0,16	94,13 ± 0,07	93,15 ± 0,46	93,03 ± 0,23

^a Se presenta el valor promedio de la determinación ± desviación estándar (n=3), CV<5%.

En la **tabla 8** se presentan los factores tóxicos considerados para las muestras crudas y cocidas, que de acuerdo a la cantidad de agua contenida en el material fresco o crudo, las concentraciones de éstos disminuyen considerablemente.

Tabla 8. Factores tóxicos en las muestras frescas de las variedades de verdolagas crudas y cocidas.

Factor tóxico	Variedad/tratamiento			
	Mixquic Cruda	Mixquic Cocida	Nepantla Cruda	Nepantla Cocida
Oxalatos (%) ^{a b}	0,67 ± 0,011	0,46 ± 0,018	0,54 ± 0,024	0,42 ± 0,021
Fitatos (%) ^{a b}	0,14 ± 0,001	0,12 ± 0,001	0,14 ± 0,001	0,10 ± 0,002
Nitratos (%) ^{a b}	0,44 ± 0,004	0,15 ± 0,001	0,37 ± 0,002	0,10 ± 0,002

^a Se presenta el valor promedio de la determinación ± desviación estándar (n=3); CV<5%.

^b Presenta diferencia estadística significativa entre tratamientos (cruda y cocida) en ambas variedades, prueba t student (p<0,01).

4. Conclusiones

El mayor componente de la verdolaga son los hidratos de carbono, en seguida se encuentran las

proteínas, cenizas, fibra cruda y como componente minoritario la grasa cruda. Los efectos de la cocción sobre los nutrientes fue variada: las cenizas y la vitamina C disminuyeron; mientras que la grasa cruda aumento, lo mismo que la digestibilidad proteínica para la variedad Mixquic

El efecto de la cocción sobre los minerales no se observó claramente. Se encontraron interferencias debido al agua para cocción y el método de acondicionamiento de la muestra.

Las muestras presentaron altos contenidos en los factores tóxicos analizados que fueron oxalatos, fitatos y nitratos. La cocción tuvo efectos benéficos y disminuyó sus concentraciones, particularmente los nitratos. Según la relación oxalato/calcio, la verdolaga es una mala fuente de calcio y puede interferir con calcio exógeno a la verdolaga. El contenido de ácido fítico es alto y la cocción no logró que disminuyera tanto, por lo que las verdolagas son mala fuente de hierro y otros metales di y trivalentes; sin embargo sobre el ácido fítico, existe la controversia que este fitoquímico, puede funcionar como un componente nutracéutico.

El efecto producido por la cocción se mostró claramente, no daña drásticamente el aporte nutricio de las verdolagas; si bien se perdió la Vitamina C, hubo aumento en la digestibilidad; y lo más importante es que disminuye significativamente las cantidades de factores tóxicos presentes.

No es recomendable consumir con frecuencia ni en altas cantidades la verdolaga en forma cruda, pero puede tolerarse un consumo moderado si se preparan cocidas.

5. Referencias

Aberoumand, A. 2011. *Protein, fat, calories, phytic acid an phenolic in some plan foods based diet.* Food Processing and Technology. 2 (3), 2-4.

Aberoumand, A. 2012. *Screenig of phichemical compounds and toxic proteinaceous protease inhibitor in some lesser-known food based plants and their effects and potential applications in food.* International Journal of Food Science and Nutrition Engineering. 2 (3) 16-20.

Abd El-Aziz, H., Sobhy, M., Ahmed, K., Abd El-Hameed, A., Rahman, Z. and Hassan, W. 2014. *Chemical and remedial effects of purslane (Portulaca oleracea) plant.* Life Science Journal. 11 (6), 31-42.

Alam, A., Juraimi, A., Rafii, M., Hamid, A. and Hakim, A. 2014. *Morpho-physiological and mineral*

- nutrient characterization of 45 collected purslane (Portulaca oleracea L.) accessions.* Crop Production and Management. 73 (4), 426-437.
- Bohn, L., Meyer, A. and Rasmussen, S. 2008. *Phytate: impact on environment and human nutrition. A challenge for molecular breeding.* Journal of Zhejiang University Science B. 9 (3), 165-191.
- Calco, M. y Mendoza, E. 2012. *Toxicología de los alimentos.* McGraw-Hill, Madrid.
- Cataldo, D., Haroon, M., Schrader, L. and Youngs V. 1975. *Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid.* Soil Plant Annual. 6, 71-80.
- Charters, S. and Evershed, R. 1997. *The behavior of epicuticular leaf wax during boiling of a leafy vegetable.* Journal of Archeological Science. 24 (1), 1-7.
- Desphande, S. 2002. *Handbook of food toxicology.* Marcel Dekker, New York.
- Fekadu, H. and Ratta, N. 2014. *Antinutritional factors in plant foods: Potential health benefits and adverse effects.* International Journal of Nutrition and Food Sciences. 3 (4), 284-289.
- Gonella, M., Charfeddine, M., Conversa, G. and Santamaria, P. 2010. *Purslane: a review of its potential for health and agricultural aspects.* The European Journal of Plant Science and Biotechnology. 4 (1), 131-136.
- Hansen, T., Bang, D., Laursen, K., Pedas, P., Husted, S. and Schjoerring, J. 2013. *Multielement plant tissue: analysis using, ICP spectrometry.* In: *Plant mineral nutrients (methods and protocols).* Maathius, F. (Ed.). Human Press, London.
- Helrich, K. 1990. *Official methods of analysis of the Association Official Analytical Chemists*, 15th edition, vol. 2, AOAC, Arlington.
- Helrich, K. 1995. *Official methods of analysis of the Association Official Analytical Chemists*, 16th edition, vol. 2, AOAC, Arlington.
- Horwitz, W. and Latimer, G. 2006. *Official methods of analysis of the Association Official Analytical Chemists International*, 18th edition, AOACI, Gaithersburg.
- Instituto Nacional de Salud Pública. 2012. *Encuesta nacional de salud pública 2012 (resultados nacionales).* Subdirección de comunicación científica y publicaciones del INSP, Cuernavaca.
- Mera, L., Bye, R., Castro, D. y Villanueva, C. 2011. *Documento diagnóstico de Portulaca oleracea L.* Universidad Autónoma de Chapingo-SINAREFI, Texcoco.
- Mera, L., Bye, R. y Castro, D. 2011. *Especies vegetales poco valoradas: una alternativa para la seguridad alimentaria.* UNAM-SNICS-SINAREFI, CDMX.
- Noonan, S. and Savage, G. 1999. *Oxalate content of food and its effects on human.* Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition. 8 (1), 64-74.
- Rickard S. and Thompson, L. 1997. *Interactions and Biological effects of phytic acid.* In: *Antinutrients and phytochemicals in food.* Shahidi, F. (Ed.). American Chemical Society, Washington, DC.
- Savage, G. 2007. *Oxalate content of raw and cooked purslane.* Journal of Food Agriculture and Environment. 5 (1), 124-128.
- Schaafsma, G. 2000. *The protein digestibility.* The Journal of Nutrition. 130 (7), 1865s- 1867s.
- Sotelo, A., Mendoza, J. y Argote, R. 2003. *Contenido de ácido fítico en algunos alimentos crudos y procesados. Validación de un método colorimétrico.* Revista de la Sociedad Química de México. 46 (4), 301-306.
- Sungsoo, S. and Dreher, M. 2001. *Handbook of Dietary fiber.* Marcel Dekker, New York.
- Swaigood, H. and Catignani, G. 1991. *Protein digestibility: in vitro methods of assessment.* Advances in Food and Nutrition Research. 35, 185-236.
- Terron, J. 2016. *Caracterización bromatológica y determinación de factores tóxicos naturales en 6 variedades de verdolaga (Portulaca oleracea L.) de uso alimenticio.* Tesis de la Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Cd. de México, México.
- Thompson, J., Manore, M. and Vaughan, L. 2011. *The science of nutrition.* Pearson, San Francisco.
- Uddin, K., Juraimi, A., Hossain, S., Nahar, A., Ali, E. and Rahman, M. 2014. *Purslane weed (Portulaca oleracea): a prospective plant source of nutrition, omega-3 fatty-acids, and antioxidant attributes.* The Scientific Journal. 2014 (1), 1-6.
- Valle, P y Lucas B. 2000. *Toxicología de alimentos.* Instituto Nacional de Salud Pública, Cd. de México

06TCA. Efecto del 1-metilciclopropeno en el proceso de estrés oxidativo y el desarrollo de escaldadura superficial en peras.

Effect of 1-methylcyclopropene in the process of oxidative stress and development of superficial scald in pear fruits.

Mabel Beatriz Vullioud¹, Ana Paula Candan².

1. Fac. de Cs y Tecnología de los Alimentos, U.N.Co, Río Negro, Argentina.
2. INTA - EEA Alto Valle General Roca, Río Negro, Argentina.mabel.vullioud@facta.uncoma.edu.ar

Resumen

La escaldadura superficial (ES) es el resultado de la oxidación del α -farneseno a compuestos altamente tóxicos como los trienos conjugados. El tratamiento con 1-metilciclopropeno (1-MCP) controla este desorden porque inhibe la síntesis y oxidación de estos precursores, sin embargo, su efecto sobre el sistema antioxidante ha sido menos estudiado. Peras 'Beurré D'Anjou' sin tratamiento (Control) y tratadas con 300 ppb de 1-MCP fueron almacenadas 240 días en cámara convencional a -0.5°C . Se determinó la capacidad antioxidante total (DPPH), los daños oxidativos: peroxidación de lípidos (MDA) y pérdida de electrolitos (EL) y el porcentaje de escaldadura superficial. Se comprobó que el 1-MCP controló completamente la ES durante todo el periodo evaluado. La capacidad antioxidante total aumentó como respuesta al estrés y presentó dinámicas similares en ambos tratamientos. El nivel de daño oxidativo (MDA y EL), aumentó con la puesta en frío particularmente en los primeros meses y luego fluctuó hasta el final del almacenamiento, sin diferencias significativas entre tratamientos. En conclusión, el 1-MCP aplicado en poscosecha a dosis comercial permite controlar la escaldadura superficial, pero no puede corroborarse que la atenuación del daño se deba al mantenimiento del sistema antioxidante, aunque sí se observó que no lo afecta de manera negativa.

Palabras clave: 1-MCP, capacidad antioxidante, daño oxidativo, escaldadura superficial.

Abstract

Superficial scald (ES) is the result of the oxidation of α -farnesene to highly toxic compounds such as conjugated trienes. Treatment with 1-methylcyclopropene (1-MCP) controls this disorder because it inhibits the synthesis and oxidation of these precursors; however, its effect on the antioxidant system has been less studied. Pears 'Beurré D'Anjou' without treatment (Control) and treated with 300 ppb were stored 240 days in air at -0.5°C . Total antioxidant capacity (DPPH), the oxidative damages: lipid peroxidation (MDA), electrolyte loss (EL) and superficial scald percentage (visual scale), were determined. It was found that 1-MCP completely controlled the ES throughout the evaluated period. The total antioxidant capacity increased in response to stress and presented similar dynamics in both treatments. The level of oxidative damage (MDA and EL), increased with the cold setting particularly in the first months and then fluctuated until the end of storage, without significant differences between treatments. In conclusion, the 1-MCP applied in post-harvest at commercial doses allows to control the superficial scald, but it cannot be confirmed that the attenuation of the damage is due to the maintenance of the antioxidant system, although it was observed that it does not affect it in a negative way.

Keywords: 1-MCP, antioxidant capacity, oxidative damage, superficial scald

1. Introducción

El Alto Valle de Río Negro y Neuquén es la zona productora de fruta de pepita más grande de Sudamérica y concentra el 84% de la superficie plantada de pera en el país. La pera ocupa un lugar preponderante. Argentina es actualmente a nivel mundial, el tercer país productor y el primer exportador con el 30% de la oferta (MAGyP, 2013). Por logística comercial, la mayor parte de la fruta destinada a consumo se debe almacenar en cámaras frigoríficas a temperaturas entre $-0,5$ a -1°C . Bajo esas condiciones los frutos sufren estrés oxidativo por efecto de las bajas temperaturas y pueden desarrollar escaldadura superficial (Del Río *et al.*, 2005; Chiriboga *et al.*, 2013), principal alteración fisiológica de poscosecha que afecta gran parte de las peras comercializadas en el mundo (Lurie y Watkins, 2012; Bussato *et al.*, 2014). Su origen se asocia a la oxidación del α -farneseno (compuesto natural presente en la piel), a compuestos altamente tóxicos como los trienos conjugados, que provocan la peroxidación de los lípidos y la desnaturalización de las proteínas integrales de membrana, determinando la muerte celular, por desorganización de la membrana plasmática (Del Río *et al.*, 2005; Chiriboga *et al.*, 2013). Los síntomas de escaldadura consisten en manchas oscuras irregulares en la piel que no involucran la pulpa, debidas a la muerte de las células epidérmicas y su severidad resulta proporcional a la acumulación de trienos (Shaham *et al.*, 2003; Chiriboga *et al.*, 2008; Lu *et al.*, 2011). La escaldadura superficial se produce a partir de los 3-4 meses de almacenamiento y se agrava tanto al prolongarse el almacenamiento frigorífico como en la exposición del fruto a temperatura ambiente durante la llamada vida en estante (Calvo, 2012b). Esta fisiopatía fue durante años, eficazmente controlada con el uso de antioxidantes químicos como la difenilamina (DPA) y la etoxiquina, pero actualmente su uso está prohibido en varios de nuestros países compradores (Calvo y Candan, 2011). Como tecnologías alternativas se está recurriendo al uso de atmósferas controladas de bajo oxígeno (AC, ULO y ACD), que también reducen la producción de etileno (hormona que participa activamente en la síntesis de α -farneseno) y al uso de 1-MCP (1-metilciclopropeno) (Lurie y Watkins, 2012). Este compuesto bloquea los receptores y la producción autocatalítica del etileno (Chiriboga *et al.*, 2012) y ha demostrado ser efectivo en el control de escaldadura en diferentes variedades de peras susceptibles (Argenta *et al.*, 2003; Gapper *et al.*, 2006; Gamrasni *et al.*, 2010; Calvo y Candan, 2012a; Calvo, 2012a, 2013; Chiriboga *et al.*, 2014; Xie *et al.*, 2014; Vanoli *et al.*, 2016). El control resulta muy dependiente de la especie y la variedad; de la dosis y el momento de aplicación. También se han encontrado diferencias

en las respuestas de las variedades en función de la región de cultivo y/o en una misma región entre una temporada y otra, no solo a nivel del control sino a la posibilidad de madurar correctamente después del tratamiento, mostrando la sensibilidad de esta fruta al tratamiento con 1-MCP. (Chen y Spott, 2005; Chiriboga *et al.*, 2013; Calvo, 2014; Xie *et al.*, 2014). Al parecer el éxito del control de la escaldadura está ligado a varios mecanismos, que aún hoy no están bien dilucidados, pero en variedades no susceptibles se conoce que el mantenimiento del sistema antioxidante es capaz de frenar el desarrollo de la enfermedad (Toivonen, 2004; Lurie y Watkins, 2012), por ello se especula que parte del mecanismo de control estaría relacionado con una disminución del daño oxidativo por un efecto protector del 1-MCP sobre el sistema antioxidante de las peras (Larrigaudière *et al.*, 2004; Rudell *et al.*, 2009). El objetivo del presente trabajo es evaluar los efectos del tratamiento con 1-MCP sobre la capacidad antioxidante y el daño oxidativo en peras "Beurre D'Anjou".

2. Materiales y métodos

2.1 Materia Prima y Tratamiento.

Se emplearon peras de la variedad 'Beurré D'Anjou', provenientes de una chacra comercial localizada en el Alto Valle, localidad de General Roca (Río Negro). El monte de 10 años de antigüedad, plantado a 4 x 2 metros sobre pie franco, con conducción en espaldera y sometidas a los tratamientos convencionales en la zona. La experiencia se realizó en la temporada 2014, cosechando la fruta en febrero con un grado óptimo de madurez para la variedad. Los índices de cosecha fueron: 14,5 lb de presión; 11,5% de sólidos solubles; 4,42 g/L de acidez titulable y un índice de degradación de almidón de 47%. La fruta fue tratada en drencher con fungicidas de post cosecha aplicando: Captan (180 g/100L) e Iprodione (100 g/100L). Siguiendo criterios de calidad externa, se efectuó una selección manual de los frutos para homogeneizar tamaño y eliminar aquellos que presentaban defectos y se dividió en dos lotes homogéneos de 600 frutos: sin tratamiento (Control) y otro que se trató a la dosis comercial recomendada de 300 ppb con 1-metilciclopropeno (tratada). El 1-MCP se aplicó el mismo día de la cosecha, durante 24h a una temperatura de 0°C , en una cámara hermética. Los frutos se embalaron en medias cajas de cartón, con dos bandejas envueltas en bolsas de polietileno de baja densidad de 25μ . Los frutos se almacenaron luego en una cámara de frío convencional a $-0,5^{\circ}\text{C}$ y 95% HR durante 240 días.

2.2 Determinación de la Incidencia y Severidad de escaldadura.

Se realizó sobre 5 repeticiones de 10 frutos cada una luego de 90,120,180,210 y 240 días, a $-0,5^{\circ}\text{C}$, después de su salida de cámara (0 días) y luego de una maduración de 7 días a 20°C (vida de estante). Las determinaciones se hicieron en forma visual. Se midió la incidencia expresada como el porcentaje de fruta que resulta afectada y la severidad que se clasifica en 4 grados según el porcentaje de piel afectada: grado 1 (G1: muy leve): menos de 25%; grado 2 (G2: leve): entre 25% y 50%; grado 3 (G3: moderada): entre 50% y 75% y grado 4 (G4: severa): más del 75% de la superficie total del fruto con manchas.

2.3 Determinación de la capacidad antioxidante total.

Se realizó por la técnica de 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) modificada (Kondo *et al.*, 2002), sobre 15 frutos luego de 0, 30, 60, 90, 120, 180, 210 y 240 días a $-0,5^{\circ}\text{C}$. Se extrajo la piel de la fruta, se congeló con N_2 líquido, se liofilizó y se trituró hasta un polvo fino. Se tomaron 0,1 g y se añadió 1,7 mL de la solución extractante (795 mL de metanol puro y 5 mL de HCl al 32%). Las muestras se mantuvieron durante 2 horas a temperatura ambiente en un baño de agitación constante (250 rpm) y luego se centrifugaron a 20°C (24,000 g) durante 15 minutos. El sobrenadante se filtró y después de diluirse con agua milli-Q (1:4, v/v), se tomó una alícuota de 20 μL y se agitó con 780 μL de DPPH (Sigma-Aldrich, Alemania) en la oscuridad durante 30 minutos a 4°C . Se determinó la absorbancia inicial (A_i) sin muestra y la (A_f) con la muestra leyendo a los 516 nm (Espectrofotómetro UV Milton Roy 1001-Plus.USA). La inhibición (%) se calculó como: $(A_i - A_f) / (A_i) \times 100$.

2.4 Determinación del Daño Oxidativo.

2.4.1 Nivel de Peróxidos lipídicos.

Se determinó a través del contenido de un metabolito indicador: el malonaldehído (MDA), en base a la técnica de Heath y Packer (1968) con modificaciones para evitar las interferencias debidas a azúcares y antocianinas. Se tomaron la piel de 5 frutos (3 repeticiones), se congelaron, se liofilizaron y pulverizaron. Se pesaron 0,1 g y se disolvieron en una solución de ácido tricloroacético (TCA 0,1% p/v) y se centrifugaron a 11.000 g durante 20 min. Al sobrenadante se lo dividió en alícuotas de 300 μL que se hicieron reaccionar con

1,2 mL de TCA (al 20% p/v) y TBA (ácido tiobarbitúrico) al 0,1% y con 1,2 ml de TCA al 20% respectivamente, a 98°C por 20 min. Luego se enfriaron en hielo. La concentración de MDA se determinó por espectrofotometría midiendo la absorbancia a las longitudes de onda: 440 (absorción de azúcares), 532 (pico de absorbancia de las antocianinas) y 600 nm (turbidez), utilizando el coeficiente de extinción molar del MCA a 532 nm de 155 mM cm^{-1} , restando las interferencias. Los resultados se expresaron como nmol/g de muestra fresca (PF).

2.4.2 Pérdida de electrolitos (Electrolyte leakage)

Se determinó obteniendo la conductividad eléctrica (CE) según (Murray *et al.*, 1989) modificada. Se sumergieron 5 discos de piel (10 mm de diámetro x 2 mm) en 35 mL de agua destilada y se los agitó levemente 1 hora (CE_i), por cada fruto. Luego se congelaron por 24 h y se descongelaron hasta 20°C (CE_f). Se buscó con ello la ruptura absoluta de la membrana y la liberación de todos los electrolitos. Las mediciones se hicieron a salida de cámara, sobre 25 frutos para cada tratamiento. Se expresó en porcentaje % y se calculó como:

$$\text{CE}_r = \text{CE}_i / \text{CE}_f * 100$$

2.5. Análisis estadísticos.

Para todas las variables se ejecutó un Análisis de Varianza (ANOVA) teniendo en cuenta los dos tratamientos, para ver interacciones (INFOSTAT Professional, 2006). Las diferencias entre medias se analizaron por medio de los Test de Tukey, ambos con un nivel de significación del 5%, $p < 0.05$. La escaldadura superficial por ser una variable no continua se analizó a través de un Modelo Lineal Generalizado (MLG) con distribución binomial y función de enlace logit con $p < 0,05$.

3. Resultados y Discusión.

3.1 Escaldadura superficial en frutos tratados y sin tratar con 1-MCP.

Se observaron diferencias muy significativas en el desarrollo de la escaldadura superficial (ES) entre la fruta Control y la tratada con 1-MCP. El tratamiento a la dosis aplicada (300 ppb) permitió controlar totalmente la escaldadura superficial de las peras Beurré D' Anjou hasta el final de la conservación, tanto a salida de cámara como durante la vida en estante (Figura 1 y Figura 2). En los frutos Control no se observaron síntomas al momento de la salida de cámara. Los primeros daños se observaron luego 120 días + 7 días de vida en estante, con un 60% de fruta afectada, porcentaje

que aumentó en las sucesivas salidas hasta llegar al 100%.

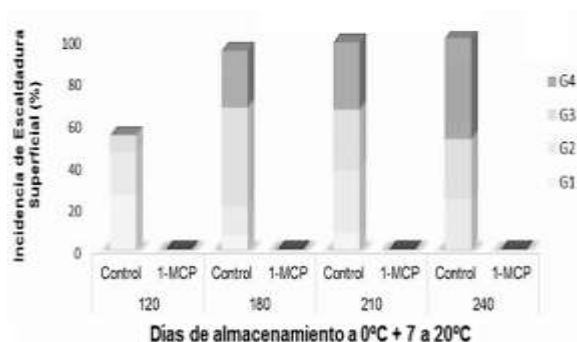


Figura 1. Incidencia (%) y grado de severidad (G1, G2, G3 y G4) de la escaldadura superficial en peras almacenadas a $-0,5^{\circ}\text{C}$ durante 240 días.

Beurrè D'Anjou es una variedad de larga conservación (hasta 5-7 meses en cámara convencional) pero muy susceptible a la escaldadura (Benítez, 2001). Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que esa conservación prolongada, solo puede lograrse con la aplicación de los antioxidantes químicos, ya que la fruta sin tratamiento (Control) presentó un 98% de fruta dañada a los 6 meses (Figura 1). La aplicación de 1-MCP aunque fue muy exitosa en el control de escaldadura, no permitió a la fruta madurar correctamente, manteniendo una firmeza de 13lb al finalizar el ensayo(datos no mostrados), muy alejada del valor de consumo que es de 4 lb.

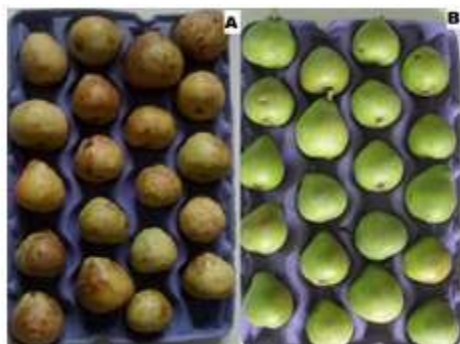


Figura 2 Daños por escaldadura en Beurrè D' Anjou después de 240 días a 0°C + 7 días de vida en estante. Control (A) y Tratada con 1-MCP (B).

Por ello, no se puede afirmar que el tratamiento a la dosis recomendada sea adecuado para esta variedad sin que se apliquen técnicas que permitan desencadenar el proceso de normal de maduración organoléptica, en especial el ablandamiento de la pulpa, una característica muy apreciada en éstas frutas.

3.2 Respuestas del sistema antioxidante de la pera tratada con 1-MCP durante su conservación en frío.

La capacidad antioxidante total en la piel de los frutos de ambos tratamientos aumentó a medida que se prolongó la conservación en frío, pero sin diferencias atribuibles al tratamiento (Figura 3) ya que solo a los 30 y 90 días la fruta Control tuvo diferencias favorables que no se mantuvieron con el tiempo. Esto indica que la puesta en cámara de la pera desencadena un aumento de la actividad del sistema como respuesta al estrés por frío, pero no hay un efecto directo del tratamiento. En síntesis, los resultados sugieren que la capacidad antioxidante estuvo más influenciada por la duración del almacenamiento que por el efecto del 1-MCP. Esto coincide con lo reportado por Silva *et al.* (2010), en pera Rocha tratada con 500 ppb de 1-MCP, donde existió un completo control de ES, pero a nivel antirradicalario no hubo efecto alguno del tratamiento en los 240 días que duró el ensayo. Shaham *et al.* (2003) encontraron el mismo efecto sobre manzana Granny Smith, y postularon que el 1-MCP al mantener bajos los niveles de trienos responsable de la ES, podría obviar la necesidad del tejido epidérmico de activar algunos mecanismos antioxidantes y por ello no se observaría una capacidad antiradicalaria total aumentada.

También se conoce que las peras tienen menor cantidad de antioxidantes que las manzanas (Calvo, 2014). Un estudio sobre D'Anjou en el Valle indica que la capacidad antioxidante total (DPPH) en las peras varía entre 18 y 30% contra promedios de 40 a 80% en manzanas (Calvo *et al.*, 2015). Esto indica que las peras tienen una menor capacidad de evitar procesos oxidativos tales como la escaldadura superficial. A su vez, otros factores inciden fuertemente sobre la capacidad antioxidante en peras, tales como la variedad (Galvis-Sánchez *et al.*, 2003; Salta *et al.*, 2010), las características de cultivo y medioambientales, la fecha de cosecha y la duración y condiciones de almacenamiento (Whitaker *et al.*, 2009; Gamrasni *et al.*, 2010, Calvo *et al.*, 2015).

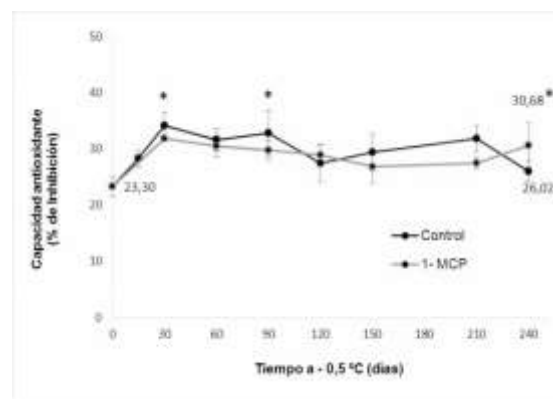


Figura 3. Cambios en la capacidad antioxidante de peras durante el almacenamiento. Asteriscos indican diferencias significativas entre tratamientos.

Esto puede explicar la diferencia en la incidencia de escaldadura en peras, hallada por diferentes autores entre regiones y/o dentro de una misma variedad y zona de producción.

3.3 Evolución del daño oxidativo por estrés por frío en frutos almacenados en cámara convencional.

El MDA (malondialdehído) es el principal y más estudiado de los productos secundarios de peroxidación de los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas, que impacta sobre la fluidez y selectividad de las membranas (Del Río *et al.*, 2005; Moller *et al.*, 2007) y la pérdida de electrolitos (EL) es un indicador de la pérdida de integridad de las membranas, ya que aumenta a medida que las membranas pierden su permeabilidad selectiva (Whitlow *et al.*, 1992).

El contenido de MDA siguió un patrón errático con aumentos y disminuciones a lo largo del almacenamiento de la fruta en la cámara, aunque el balance final tanto para Control como Tratada indicó un aumento importante en relación al inicio de la puesta en frío, lo cual es esperable e indicaría daños importantes en las membranas por efecto de las bajas temperaturas. Los valores se incrementaron rápidamente a partir de la puesta en cámara, alcanzando un valor máximo a los 60 días (con una producción promedio de 158 nmol MDA/g PF), sin que existieran diferencias significativas entre tratamientos (Figura 4). Los 60 días coinciden con un pico de aumento del nivel de trienos conjugados, que luego se mantiene hasta el final (datos no mostrados), ello explicaría el pico tan marcado. También Lu *et al.* (2014) en manzana Fuji y Mditshwa *et al.* (2016), en Granny Smith observaron este brusco aumento y correlacionaron su concentración con la incidencia y severidad de los daños por ES. El contenido luego disminuye levemente y se mantiene en los frutos Control hasta el final.

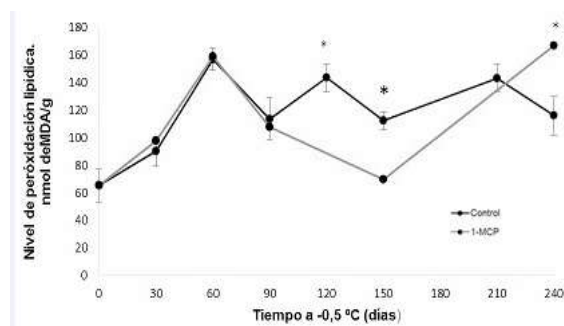


Figura 4. Cambios en el nivel de peroxidación de los lípidos (MDA) de las membranas de la piel de peras

durante el almacenamiento. Asteriscos indican diferencias significativas entre tratamientos.

Aunque algunos autores sostienen que el 1-MCP prevendría el daño de las membranas, por motivos diversos como una menor acumulación de H₂O₂ (que también involucra procesos de senescencia en peras) (Larrigaudière *et al.*, 2004; Lu *et al.*, 2014) y/o el mantenimiento de la actividad enzimática Larrigaudière *et al.* (2004), esto solo ocurrió durante un período corto (Figura 4) y al parecer, esta situación sería producto de la ausencia de oxidación de las membranas por la baja producción de trienos en estas frutas (datos no publicados) y no una acción directa de protección sobre los lípidos de las membranas.

En relación a la pérdida de electrolitos, ésta aumentó rápidamente hasta los 45 días en ambos tratamientos y luego disminuyó hasta los 120 días para mantenerse sin mayores cambios hasta el final del almacenamiento (Figura 5). Chiriboga *et al.* (2013) encontraron que a los 105 días de almacenamiento no había diferencias entre peras tratadas o no, con una pérdida de electrolitos del 50%, similar a los valores del ensayo a esa fecha, pero la gran diferencia surgía en la vida de estante, donde el índice se disparaba a más del 80% en las Control mientras las tratadas no tenían cambios. Esto explicaría porqué aunque la escaldadura superficial aumentó su severidad a medida que transcurrió el almacenamiento (Figura 1), no se vio reflejado en este índice, pues se tomó siempre a salida de cámara y nunca se evidenciaron daños en ese momento. Posiblemente si se hubiera medido durante la vida en estante sería factible según dichos autores poner en relevancia el efecto protector del 1-MCP, que en efecto logró controlar el daño en un 100%.

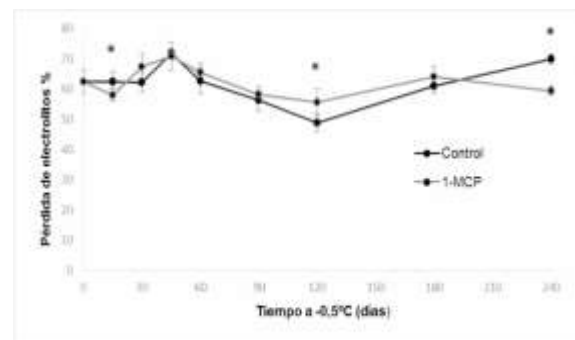


Figura 5. Evolución de la pérdida de electrolitos de la piel de peras Beurré D' Anjou durante su almacenamiento. Asteriscos indican diferencias significativas entre tratamiento.

4. Conclusión

El 1-MCP aplicado en poscosecha a dosis comercial permite controlar completamente la escaldadura superficial, pero no puede confirmarse que dicho efecto se deba al mantenimiento del sistema antioxidante de las peras Beurré D'Anjou.

5. Referencias

Argenta, L.C., Fan, X., Mattheis, J.P. (2003). *Influence of 1-methylcyclopropene on ripening, storage life, and volatile production by D' Anjou cv. pear fruit*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51, 3858-3864.

Benítez, C.(2001). *Cosecha y Poscosecha de Peras y Manzanas en los Valles irrigados de la Patagonia*. Ed. INTA.L&M.Argentina.128 pp

Busatto B. y otros siete autores. (2014). *Target metabolite and gene transcription profiling during the development of superficial scald in apple (Malus x domestica Borkh)*. BMC Plant Biology 14(193),1-13.

Calvo, G. (2012a). *Control de escaldadura superficial en peras: situación actual y perspectivas*. Charla-Presentación. <http://inta.gov.ar/documentos>

Calvo, G. (2012b). *Escaldadura Superficial Fisiología y Control*. Revista Pomáceas. Boletín Técnico 12, N° 6.

Calvo, G.(2014). *Tendencias en la conservación de frutas de Pepita en el Alto Valle de Rio Negro, Argentina*. Presentación. Seminario de frutales de pepita -INIA Las Brujas – Uruguay.1-2 octubre.

Calvo, G., Candan P. (2011). *Guía para la identificación de fisiopatías en manzanas y peras*. MAGyP-INTA Alto Valle.

Calvo, G., Candan, A.P.(2012) *.Tendencias para la conservación de frutas de pepita*. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha 13 (2), 153-159.

Calvo, G. y otros cuatro autores. (2015). *An insight into the role of fruit maturity at harvest on superficial scald development in 'Beurré D' Anjou' pear*. Scientia Horticulture 192, 173-179

Chen, P. M., Spotts, R. (2005). *Changes in ripening behaviors of 1-MCP treated D'Anjou pears after*

storage. International Journal of Fruit Science 5, 3-18.

Chiriboga, M., Larrigaudière, S. , Recasens I. (2008). *Aplicación poscosecha de 1-metilciclopropeno en peras*. ITEA. Información técnica Económica Agraria 104 (1),12-30.

Chiriboga, M.A., y otros tres autores. (2012). *Cold-induced changes in ACC metabolism determine softening recovery in 1-MCP treated Conference pears*. Postharvest Biology and Technology 68, 78-85.

Chiriboga, M. y otros tres autores. (2013). *Antioxidant potential of 'Conference' pears during cold storage and shelf life in response to 1-methylcyclopropene*. Food Science and Technology 51, 170-176.

Chiriboga, M.A. y otros tres autores. (2014). *Últimos avances en la aplicación del 1-metilciclopropeno (1-MCP) en peras*. Información Técnica Económica Agraria 110 (1), 34-48

Del Rio, D., Stewart, A., Pellegrini, N. (2005). *A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress*. Nutritional Metabolism Cardiovascular Diseases15 (4), 316-328.

Galvis Sanchez, A., Gil Izquierdo, A., Gil, M. (2003). *Comparative study of six pear cultivars in terms of their phenolic and vitamin C contents and antioxidant capacity*. Journal of the Science of Food and Agriculture 83, 995–1003.

Gamrasni, D., Ben-Arie, R., Goldway, M. (2010). *1-Methylcyclopropene (1-MCP) application to Spadona pears at different stages of ripening to maximize fruit quality after storage*. Postharvest Biology and Technology 58,104-112.

Gapper, N.E., Bai, JH., Whitaker, B.D. (2006). *Inhibition of ethylene-induced α -farnesene synthase gene PcAFS1 expression in "D' Anjou" pears with 1-MCP reduces synthesis and oxidation of α -farnesene and delays development of superficial scald*. Postharvest Biology and Technology 41, 225-233.

Heath, R.L., Packer, L. (1968). *Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation*. Archives of Biochemistry and Biophysics 125 (1), 189-198.

- Kondo, S. y otros tres autores. (2002). *Antioxidative activity of apple skin or flesh extracts associated with fruit development on selected apple cultivars*. Science Horticulture 96,177–185.
- Larrigaudière, C. y otros tres autores. (2004). *Oxidative behaviour of “Blanquilla” pears treated with 1-methylcyclopropene during cold storage*. Journal of the Science of Food and Agriculture 84, 1871-1877.
- Lu, X.G. y otros cuatro autores- (2011). *Possible mechanisms of warming effects for amelioration of superficial scald development on ‘Fuji’ apples*. Postharvest Biology Technology 62, 43-49.
- Lu, X., Ma, Y., Liu, X. (2014). *Effects of hydrogen peroxide accumulation, lipid peroxidation, and polyphenol oxidation during superficial scald development in ‘Fuji’ apples*. Horticulture Environment Biotechnology 55, 299-307.
- Lurie, S., Watkins, C. (2012) *Superficial scald, its etiology and control*. Postharvest Biology Technology 65, 44-60.
- Ministerio Agricultura, Ganadería y Pesca de Río Negro.(2013). Secretaría de Fruticultura. *Propuestas para una Fruticultura Sustentable*.
- Mditshwa, A. y otros cinco autores. (2016). *Classification of ‘Granny Smith’ apples with different levels of superficial scald severity based on targeted metabolites and discriminant analysis*. Journal of Applied Botany and Food Quality 89,49-55.
- Murray, M.B., Cape J.N., Fowler, D. (1989). *Quantification of frost damage in plant tissues by rates of electrolyte leakage*. New Phytology 113, 307-311.
- Salta, J. y otros seis autores. (2010). *Phenolic composition and antioxidant activity of Rocha pear and other pear cultivars . A comparative study*. Journal of Functional Foods 2,153 –157
- Shaham Z., Lers, A., Lurie, S. (2003). *Effect of Heat or 1-Methylcyclopropene on Antioxidative Enzyme Activities and Antioxidants in Apples in Relation to Superficial Scald Development*. Journal of the American Society for Horticultural Science 128, 761-766.
- Silva, F y otros cuatro autores. (2010). *Antioxidant properties and fruit quality during long-term storage of ‘Rocha’ pear: effects of maturity and storage conditions*. Journal of Food Quality 33, 1–20.
- Toivonen, P.M (2004). *Postharvest storage procedures and oxidative stress*. HortScience 39, 938–942.
- Vanoli, M., Grassi, M., Rizzolo, A. (2016). *Ripening behavior and physiological disorders of ‘Abate Fetel’ pears treated at harvest with 1-MCP and stored at different temperatures and atmospheres*. Postharvest Biology and Technology 111, 274–285.
- Whitaker, B.D. y otros tres autores. (2009) *Superficial scald susceptibility and α -farnesene metabolism in ‘Bartlett’ pears grown in California and Washington*. Postharvest Biology Technology 53, 43–50.
- Whitlow, T. y otros tres autores . (1992). *An Improved Method for Using Electrolyte Leakage to Assess Membrane Competence in Plant Tissues*. Plant Physiology 98, 198-205.
- Xie, X. y otros tres autores, (2014). *Ethylene synthesis, ripening capacity, and superficial scald inhibition in 1-MCP treated ‘D’ Anjou’ pears are affected by storage temperature*. Postharvest Biology and Technology 97, 1-10.

07TCA. Influencia de cultivos iniciadores autóctonos sobre el atributo color en vinos Patagónicos

Influence of autochthon starters on color attribute in Patagonian wines

R. del Carmen Maturano¹, Yolanda L. Curilén^{1,2}, Sebastián M.E. Bravo^{1,2}, Viviana A. Carreño², Adriana B. Simes², Adriana C. Caballero^{1,2} Silvana M. del Mónaco¹

1. Grupo de Enología, Instituto de Investigación y Desarrollo en Ingeniería de Procesos, Biotecnología y Energías Alternativas (PROBIEN – Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, CONICET), Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Comahue (UNCo), Neuquén, Argentina.

2. Facultad de Ciencias y Tecnología de los Alimentos, Universidad Nacional del Comahue (UNCo), Villa Regina, Argentina. Contacto: adriacaballero1@gmail.com.

Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar la aptitud enológica de levaduras autóctonas de la región patagónica y su influencia sobre el color del vino. Mostos patagónicos Malbec se inocularon con cultivos puros de las cepas autóctonas *Saccharomyces cerevisiae* F8 y M16, con el cultivo mixto autóctono Sc F8 y *Pichia kudriavzevii* ÑNI15 y con la cepa foránea F15 y se vinificaron a escala piloto durante las vendimias 2015 a 2017. Las cinéticas fermentativas se siguieron por evolución de los °Bmé y la evaluación fisicoquímica de los vinos y de los parámetros relacionados con el color (intensidad, tinte e índice de color) se realizaron siguiendo los métodos del INV. Todos los vinos obtenidos resultaron vinos secos normales, pero los elaborados con los cultivos puros autóctonos mostraron mayores intensidades e índices de color (efecto hiperocrómico, $p < 0,05$) que los elaborados con el control F15, efectos que podrían relacionarse con un mayor contenido de copigmentos (vendimias 2015 y 2016) y de pigmentos resistentes al SO₂ (vendimia 2017). La inclusión de Pk15 en el cultivo iniciador eliminó la hiperchromia. En este contexto se puede concluir que los cultivos autóctonos permiten elaborar vinos de calidad controlada y diferencial, con propiedades mejoradas del atributo color.

Palabras clave: *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia kudriavzevii*, color, vino

Abstract

The aim of this work was to evaluate the oenological aptitude of autochthon yeasts from Patagonian region and its influence on wine colour. Patagonian Malbec musts were inoculated with pure cultures of *Saccharomyces cerevisiae* F8 and M16 autochthon strains, with the autochthonous Sc F8 and *Pichia kudriavzevii* ÑNI15 mixed starter (CoC) and with the foreign strain F15 and they were vinified at pilot scale during 2015 to 2017 vintages. The fermentations kinetics were followed by evolution of Baumé degree and the physicochemical parameters of the wines as well as those related to the color (intensity, tint and color index) were carried out following the INV methods. Both indigenous and commercial starters were able to yield normal processes and products. However, wines produced with pure autochthon starters showed higher colour intensities and indexes (hyperchromic effect, $p < 0.05$) than those elaborated with the F15 control. These effects could be related to a higher content of copigments (vintages 2015 and 2016) and pigments resistant to SO₂ (vintage 2017). The inclusion of Pk15 in the starter culture (CoC) eliminated the hyperchromia. In this context, it can be concluded that Patagonian autochthon yeasts allow to produce wines of controlled and differential quality, improving colour attribute.

.Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia kudriavzevii*, color, wine

1. Introducción

El uso de cultivos iniciadores desarrollados a partir de cepas de levaduras autóctonas de la propia región productiva es una práctica en expansión en la

vitivinicultura mundial. Estos cultivos autóctonos, adaptados a las características agroecológicas de su región, se destacan por su mayor capacidad de competencia que los cultivos foráneos para controlar exitosamente el proceso (Lopes y col. 2007) y por

respetar la tipicidad del terruño permitiendo expresar en los vinos las notas organolépticas distintivas del mismo (Fleet 2008; Tofalo y col. 2013). La tendencia actual es el desarrollo de cultivos iniciadores de la fermentación alcohólica (FA) múltiples (más de una cepa de *Saccharomyces*) y mixtos (cepas *Saccharomyces* y non-*Saccharomyces*) (Ciani y Comitini 2015).

La región del Comahue -Patagonia norte- conforma la región vitivinícola más austral de la Argentina y una de las más australes del mundo; la formulación y aplicación de cultivos iniciadores regionales, hoy inexistentes en el mercado, permitirá resolver problemáticas del sector vitivinícola regional, favoreciendo la elaboración de productos de calidad controlada y diferencial, en los que se expresen las características de su terruño, muy ventajosas para el desarrollo de una viticultura de calidad enológica *premium* (Llorente y Casazza 2005). Dentro de los atributos sensoriales, el color y el flavour son de los más apreciados por el consumidor al momento de la elección de un vino (Parpinello y col., 2009). El color también es uno de los parámetros, junto con el grado alcohólico, que establece el valor comercial en los vinos tintos de traslado o ventas a granel. Por su importancia, la influencia sobre este atributo es, actualmente, un criterio de selección de levaduras para uso enológico (Suárez-Lepe y Morata 2012).

El origen del color rojo de los vinos tintos proviene principalmente de las antocianinas (antocianidinas glicosiladas en el C3), compuestos particularmente inestables en sus formas libres (Jackson 2014; Morata y col. 2016). La estabilización del color se logra por asociación de moléculas de antocianinas consigo mismas o con otros constituyentes del vino, mayoritariamente compuestos fenólicos flavonoides y no flavonoides, a través de interacciones entre las nubes electrónicas de los anillos aromáticos de ambos (copigmentación) o por formación de enlaces covalentes (pigmentos poliméricos) (Hermosín Gutiérrez 2007; Heras-Roger y col. 2016). Las levaduras durante el proceso fermentativo también pueden aportar a la estabilización del color a través de la producción de subproductos como el acetaldehído, ácido pirúvico y vinil fenoles, entre otros (Jakson 2014; Morata y col. 2016), capaces de favorecer la copigmentación, formación de pigmentos poliméricos o de generar nuevos pigmentos denominados piranoantocianinas (Schwarz y col. 2003; Morata y col. 2016). El objetivo del presente estudio fue investigar el efecto de diferentes formulaciones de cultivos iniciadores constituidos por levaduras autóctonas de la región Patagonia Norte sobre la calidad de los vinos regionales, poniendo el foco en el atributo del color.

2. Materiales y Métodos

Microorganismos. Levaduras: cepas de *Saccharomyces cerevisiae* F8 (ScF8) y ÑMN16 (Sc M16), caracterizadas como autóctonas de la Patagonia por métodos moleculares (Caballero et al. 2008; Simes y col., 2016), *Pichia kudriavzevii* (ex *Issatchenkia orientalis*) ÑNI15 (P15), también caracterizada como autóctona de la Patagonia argentina (del Mónaco y col. 2016) seleccionada por sus características metabólicas de interés enológico (del Mónaco y col. 2014 a) y *S. cerevisiae* F15 (ScF15), el cultivo comercial de Laffort mayoritariamente utilizado en vinificaciones en tinto patagónicas.

Vinificaciones. Se realizaron a escala piloto (200L) durante las vendimias 2015 al 2017. Mostos industriales Malbec se inocularon con cultivos puros de la cepa indígena ScF8 o de la comercial ScF15 y se adicionó ScM16 en vendimias 2016 y 2017 (concentraciones celulares iniciales $\sim 10^7$ cél/mL) y con el CoC (ScF8+ P15, inoculación simultánea en una relación 100/1 cél/mL) vendimias 2015 al 2017. Las fermentaciones alcohólicas (FA) se desarrollaron a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ hasta sequedad de los mostos (azúcares reductores totales $\approx 2 \text{ g L}^{-1}$). Los vinos se trasegaron y se transfirieron a tanques de 50L. Los vinos estabilizados se ajustados en su concentración de SO_2 y se embotellaron. La evolución de las FA se realizó por determinación de los °Bmé. Con el fin de realizar análisis microbiológicos y fisicoquímicos se tomaron muestras de mostos en los estadios iniciales, medios y finales de las FA.

Análisis de los vinos. La evaluación fisicoquímica de los vinos se realizó utilizando la metodología oficial del Instituto Nacional de Vitivinicultura (INV). El análisis estadístico de los datos se realizó mediante ANOVA y ensayo de Tukey considerándose significativas diferencias con $p < 0,05$.

Análisis de parámetros de color. Los parámetros de color en los vinos obtenidos al finalizar la FA (sin SO_2) fueron analizados en base a las medidas de absorbancia realizadas a tres longitudes de onda $\lambda_{420\text{nm}}$, $\lambda_{520\text{nm}}$ y $\lambda_{620\text{nm}}$. A partir de dichos valores pueden determinarse diferentes parámetros relacionados al atributo del color: Intensidad de Color ($A_{420\text{nm}} + A_{520\text{nm}} + A_{620\text{nm}}$), Tinte ($A_{420\text{nm}}/A_{520\text{nm}}$), Índice de color IC = (intensidad de color/tinte *1000). Se evaluó el efecto de dióxido de azufre sobre los parámetros de color a diferentes tiempos de exposición (30 minutos y 48 horas) mediante la adición a los vinos de metabisulfito de potasio en cantidades adecuadas para obtener las

concentraciones finales de SO₂ total de 20, 40 y 100 ppm.

3. Resultados y discusión

Las Tabla 1 y 2 muestran los parámetros fisicoquímicos de importancia enológica de vinos obtenidos a partir de mostos regionales Malbec elaborados con cultivos iniciadores puros y mixto autóctonos así como con el cultivo comercial, resultando vinos fisicoquímicamente normales y cuyos contenidos en azúcares reductores totales (ART) presentan valores dentro de los límites aceptados para ser clasificados como vinos secos (ART ≤ 2 g/L). Las concentraciones de metanol en los vinos fueron siempre < 0,25 mg/l y las de carbamato de etilo en todos los casos estuvieron por debajo del límite de detección del métodos utilizados por el INV (15 µg/L) (datos no mostrados), demostrando la bondad para su uso enológico de los cultivos autóctonos que se intentan validar.

Los resultados presentados en la Tabla 1 y 2 también muestran la influencia significativa de las cepas conductoras de la FA sobre los parámetros relacionados con un importante atributo del vino como es el color. Consistente con lo reportado en investigaciones previas utilizando mostos Pinot noir y Merlot (del Mónaco y col. 2014b), los vinos elaborados en el 2015 con la variedad Malbec (Tabla 1) y el cultivo indígena ScF8 presentan un índice de color (IC) significativamente mayor (efecto hiperocrómico) que los elaborados con su control ScF15. Esta hiperocromía se explica por un aumento de la absorbancia de estos vinos a 520 nm y 620 nm (efecto batocrómico) sin cambios en la absorbancia a 420 nm (datos no mostrados), que determinan un aumento significativo en la intensidad de color y concomitantemente una disminución del tinte (Tabla 1 y Figura 1). Vinificaciones realizadas en la vendimia 2016 permitieron confirmar este resultado y evidenciar un comportamiento similar de la otra cepa autóctona ScM16, incorporada a los ensayos realizados durante esta vendimia (Tabla 2).

Tabla 1. Caracterización fisicoquímica y evaluación sensorial de vinos obtenidos a partir de mosto tinto regionales variedad Malbec- vendimia 2015, conducidas por cultivos puros de *S. cerevisiae* F8 (ScF8) y F15 comercial (ScF15) y cultivo mixto ScF8 + *P. kudriavzevii* I15 (CoC)

Evaluación Físicoquímica	Sc F15	Sc F8	CoC	P
ART (g/L)	2,00±0,38	1,80±0,51	1,85±0,78	ns
Etanol (% v/v)	15,10±0,10	15,00±0,80	14,80±0,10	ns
pH	3,93±0,04	3,90±0,02	3,87±0,18	ns
AT†	4,77±1,07	4,61±0,14	4,86±0,21	ns
AV**	0,75±0,03	0,77±0,05	0,73±0,00	ns
Ac. L-málico (g/L)	0,42±0,23 ^b	0,53±0,11 ^b	0,41±0,06 ^a	ns
Glicerol (g/L)	10,46±0,26	10,56±0,31	9,45±0,35	ns
SO ₂ Total (ppm)	20±9	15±7	16±4	ns
SO ₂ Libre (ppm)	6±1	6±2	6±2	ns
Índice de Color	1243±33 ^b	2056±114 ^a	1092±62 ^b	<0,01
Intensidad de Color	0,92±0,01 ^b	1,38±0,20 ^a	0,80±0,09 ^b	<0,05
Tinte	0,74±0,04 ^a	0,65±0,00 ^b	0,69±0,03 ^{ab}	<0,05

ART: Azúcares Reductores Totales (g/L); † Acidez Titulable expresada en Ácido Tartárico (g/L); ** Acidez Volátil, expresada en Ácido Acético (g/L); ND: No detectado. Subíndices diferentes indican diferencias significativas dentro de un lote de datos analizados por Anova y Test Tukey HSD n=2

Tabla 2. Caracterización fisicoquímica y evaluación sensorial de los vinos elaborados con cultivos iniciadores indígenas puros ScF8, ScM16 y mixto (ScF8 +Pk, en la forma de CoC) y con el cultivo foráneo comercial (ScF15) en las Vendimias 2016 y 2017

Malbec 2017					
Evaluación Fisicoquímica	Sc F15	Sc M16	Sc F8	ScF8+Pk	p
ART (g/L)	2.00±0.38	1.85±0.18	1.80±0.31	1.61±0.21	ns
Etanol (% v/v)	11.94±1.56	13.26±0.27	13.81±0.42	13.42±0.22	ns
pH	3.67±0.03	3.66±0.02	3.78±0.02	3.83±0.02	ns
Acidez titulable †	6.36±0.20	6.17±0.11	5.75±0.14	5.95±0.21	ns
Acidez volátil ††	0.55±0.13	0.55±0.08	0.45±0.09	0.48±0.11	ns
Ácido málico (g/L)	3.14±0.15 ^b	2.56±0.25 ^b	3.77±0.61 ^b	0.73±0.31 ^a	<0.01
Glicerol (g/L)	10.42±0.22 ^b	9.41±0.19 ^a	9.38±0.11 ^a	10.71±0.11 ^b	<0.05
SO ₂ Total (ppm)	105±10	95±8	101±11	89±9	ns
SO ₂ Libre (ppm)	45±4	40±3	42±3	42±4	ns
Índice de color	2234±65 ^a	2694±54 ^b	2779±31 ^b	2473±45 ^a	<0.01
Intensidad de color	1.270±0.046 ^a	1.969±0.037 ^c	1.979±0.087 ^c	1.569±0.057 ^b	<0.01
Tinte	0.598±0.030 ^a	0.733±0.017 ^b	0.708±0.14 ^b	0.634±0.022 ^a	<0.05

Malbec 2016					
Evaluación Fisicoquímica	Sc F15	Sc M16	Sc F8	ScF8+Pk	p
ART (g/L)	1.96±0.07	1.76±0.15	2.11±0.11	1.78±0.07	ns
Etanol (% v/v)	16.3±0.40	16.30±0.30	15.4±0.20	15.6±0.22	ns
pH	3.90 ±0.17	3.80±0.04	3.89±0.06	3.80±0.01	ns
Acidez titulable †	5.46±0.65	6.00±0.30	5.18±0.66	5.63±0.31	ns
Acidez volátil ††	0.66±0.11	0.58±0.12	0.61±0.14	0.57±0.10	ns
Ácido málico (g/L)	2.06±0.30 ^b	0.77±0.16 ^a	2.11±0.28 ^b	2.61±0.25 ^b	<0.01
Glicerol (g/L)	10.58±0.17 ^c	10.08±0.18 ^b	9.31±0.07 ^a	9.27±0.05 ^a	<0.05
Índice de color ¹	1801±78 ^a	2174±21 ^a	2323±57 ^c	1879±31 ^b	<0.01
Intensidad de color	1.134±0.067 ^a	1.263±0.053 ^b	1.387±0.081 ^d	1.191±0.037 ^c	<0.01
Tinte	0.685±0.08 ^b	0.581±0.08 ^a	0.597±0.18 ^a	0.634±0.20 ^{ab}	<0.05

† Expresada como ácido tartárico (g/l); †† expresada como ácido acético(g/l). En los vinos 2017 se inhibió la FML por adición de SO₂; en vinos 2016 la FML se desarrolló espontáneamente. Letras diferentes como superíndices señalan diferencias significativas entre los vinos de la misma variedad (ANOVA y prueba HD de Tukey con n=2).

En las vinificaciones 2017 el efecto de ambas cepas autóctonas sobre el IC y la intensidad de color fue similar a los descritos en la vendimias 2015 y 2016 (efecto hipercrómico), pero contrariamente a lo observado en los vinos de estos dos años, los vinos elaborados con las cepas autóctonas en el 2017 mostraron también un aumento de la absorbancia a



420nm (efecto hipsocrómico) que determinó un aumento significativo de sus tintes respecto del control (ScF15) (Tabla 2 y Figura 2).

Figura 1. Color de los vinos elaborados en la Vendimia 2015

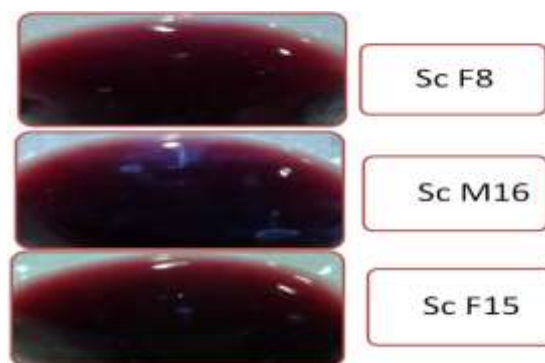


Figura 2: Color en los vinos Malbec Vendimia 2017

Como ya se ha señalado, la estabilización del color de los vinos se produce mediante diferentes mecanismos como la copigmentación (asociación de antocianinas consigo mismas o con moléculas de flavonoles y/o ácidos cinámicos a través de interacciones débiles de los electrones de sus anillos aromáticos), formación de pigmentos poliméricos

(enlaces covalentes entre moléculas de antocianinas y taninos) y formación de nuevos pigmentos colorantes como las piranoantocianinas. En general la copigmentación es el mecanismo más importante de estabilización del color en los vinos jóvenes, y está asociada a un incremento de la intensidad (efecto hipercrómico) y a un viraje hacia tonalidades más azuladas (absorbancia a mayores longitudes de onda, efecto batocrómico) del color rojo del vino tinto (disminución del tinte). En este contexto, el aumento de la intensidad de color en los vinos elaborados con los cultivos iniciadores autóctonos ScF8 y M16 podría atribuirse a un mayor contenido de pigmentos que en los elaborados con la cepa control ScF15. La concentración de copigmentos depende de la composición fenólica y de las relaciones molares de copigmento/pigmento que de forma particular se establecen en un vino. Si bien los complejos de copigmentación se forman con mucha facilidad (se han medido constantes de complejación del orden de $10^2 - 10^3 \text{ mol L}^{-1}$) ((Hermosín Gutiérrez 2007), también se disocian fácilmente aumentando la proporción de ciertos co-solventes en el medio, como el propio etanol y otros alcoholes del vino o el ácido acético. Aunque es una hipótesis que debe ser contrastada experimentalmente, la hipercromía de los vinos elaborados con las

levaduras autóctonas podría estar relacionado con cambios en el medio vino generado por el metabolismo de éstas que favorezcan la extracción de antocianinas y copigmentos o la disociación de los complejos. Por su parte, el mayor tinte de los vinos ScF8 y M16 elaborados en el 2017, respecto de su control SCF15, podría deberse a un mayor contenido de pigmentos poliméricos y/o piranoantocianinas, pigmentos rojo anaranjados (absorben luz a $\lambda < 500\text{nm}$, efecto hipsocrómico) resistentes a la decoloración por SO_2 que otorgan al color del vino el matiz rojo teja típico de los vinos añejados (Alcalde-Eon y col. 2006). Existe evidencia que el acetaldehído, un metabolito secundario de las levaduras, acelera la formación de estos pigmentos antocianínicos poliméricos, actuando de nexo de unión entre los antocianos y los taninos (Hermosín Gutiérrez 2007; Morata y col. 2016), y que tanto el acetaldehído como el ácido pirúvico (otro metabolito fermentativo de las levaduras) intervienen en la formación de piranoantocianinas (Morata y col 2016). Aunque se necesitan experiencias adicionales, los resultados obtenidos de la exposición de los vinos 2017 al SO_2 presentados en la Figura 3, son consistentes con la hipótesis planteada.

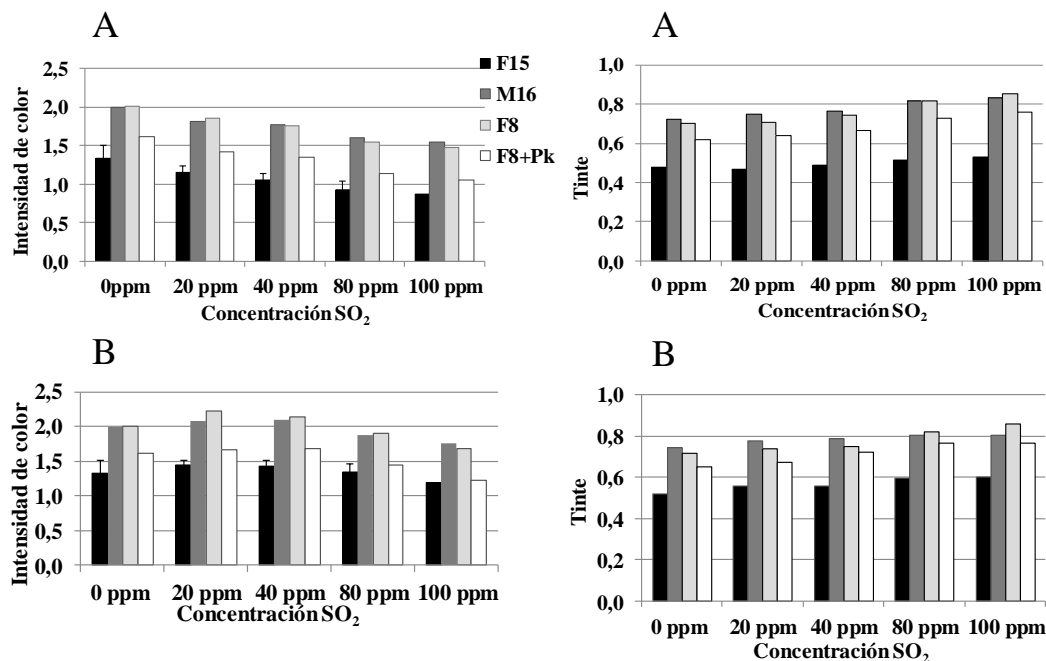


Figura 3: Efecto del SO_2 sobre el color de los vinos Malbec 2015. A: 0,5 h exposición y B: 48h exposición

Finalmente, los vinos variedad Malbec elaborados con el CoC (F8+Io) mostraron IC e intensidad de color significativamente menores que sus controles (ScF8)), perdiéndose tanto el efecto hipercrómico como el batocrómico producido por el cultivo puro ScF8 (Tablas 1 y 2 y Figura 1). Esta pérdida de color es consistente con pérdidas en el material colorante, y podría atribuirse a la hidrólisis de antocianinas durante el proceso fermentativo producida por la actividad β -glucosidasa (β -GL) del cultivo adjunto *P. kudriavzevii* ÑNI15 (del Mónaco y col. 2016). Mientras los vinos 2015 y 2016 se elaboraron con el mismo clon de Malbec, el que fue diferente del utilizado en el 2017, el efecto anómalo de los cultivos puros y mixto de levaduras autóctonas sobre el tinte observado en este último año en relación a los dos primeros podría deberse a un efecto diferencial de la calidad del sustrato sobre el comportamiento metabólico de la levaduras.

4. Conclusiones

La regularidad en la calidad fisicoquímica de los vinos Malbec elaborados durante las vendimias 2015 a 2017 pone en evidencia la estabilidad genética de las cepas de levaduras autóctonas de la Patagonia *S. cerevisiae* F8 y M16 y *P. kudriavzevii* P15, permitiendo validar su aptitud para su uso en enología, en particular para vinificaciones de la variedad Malbec

Los cultivos iniciadores autóctonos ScF8 y M16 impactan positivamente sobre la calidad sensorial de los vinos, intensificando significativamente su color, uno de los atributos de preferencia al momento de la elección de un vino y el que establece, junto con el contenido alcohólico, el valor comercial en los vinos tintos de traslado o ventas a granel. El uso de levaduras locales en el proceso de vinificación permite diferenciar positivamente la calidad de los vinos agregándoles valor.

Referencias

Alcalde-Eon, C., Escribano-Bailón, M.T., Rivas-Gonzalo, J.C. (2006). Changes in the detailed pigment composition of red wine during maturity and ageing: a comprehensive study. *Analytica Chimica Acta* 563, 238–254.

Caballero, A., Lopes, C.A., Rodríguez, M.E., Zajonskovsky, I.E., Sangorrín, M.P., Barbagelata R.J., Lavalle, T.L. (2008). *Informe final PFIP 2004-1028 Prov.Nqn. ANPCyT.*

Ciani, M., Comitini, F. (2015) Yeast interactions in multi-starter wine fermentation. *Current Opinion Food Science* 1:1–6.

del Mónaco, S., Barda, N., Rubio, N., Caballero, A. (2014a). Selection and characterization of a Patagonian *Pichia kudriavzevii* for wine deacidification. *Journal Applied Microbiology* 117, (2): 451–464

del Mónaco, S.M., Bravo, S.M.E., Curilén, Y.L., Carreño, V.A., Caballero, A.C. (2014b) A regional starter for high quality wines: An Argentinean Patagonia experience. *Bulletin de L'OIV* 87, 217–222.

del Mónaco, S., Rodríguez, M.E., Lopes, C.A. (2016) *Pichia kudriavzevii* as a representative yeast of North Patagonian winemaking terroir. *International Journal of Food Microbiology* 230, 31-39.

Fleet, G. H. (2008) Wine yeasts for the future. *FEMS. Yeast Research* 8, 979-995.

Gambutì, A., Strollo, D., Erbaggio, A., Lecce, L., Moio, L. (2007) Effect of winemaking practices on color indexes and selected bioactive phenolics of Aglianico wine. *Journal of Food Science* 72(9), S623–8.

González-Neves G, Favre G, Gil G. Effect of fining on the colour and pigment composition of young red wines. *Food Chem.* 2014;157:385–392.

Heras-Roger J., Alonso-Alonso O., Gallo-Montesdeoca1A., Díaz-Romero C., Darias-Martín J (2016) Influence of copigmentation and phenolic composition on wine color. *Food Sci Technol* 53(6): 2540–2547.

Hermosín Gutiérrez I. (2007) Copigmentación y piranoantocianos: el papel de los flavonoles y los ácidos hidroxicinámicos en el color del vino tinto. *ACE Enología, Revista de Enología Científica y Profesional de la Asociación Catalana de Enólogos* N°81.

Jackson R. (2014) Color-Red Wines. En: “Wine Science Fourth Edition”, Chapter 6 Chemical Constituents of Grapes and Wine, pp351-430. Academic Press. NY USA.. ISBN 978-0-12-381468-5

Llorente, A., Casazza, M. (2005). El vino y su industria 40, 7–13.

Lopes, C.A., Rodriguez, M.E., Sangorrín, M., Queron, A., Caballero, A. (2007). Patagonian wines: implantation of an indigenous strain of *Saccharomyces cerevisiae* in fermentations conducted in traditional and modern cellars. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 34, 139–149.

Morata A., Loira I., Suarez Lepe J.A. (2016) Influence of yeasts in wine color. En: "Grape and Wine Biotechnology". Antonio Morata e Iris Loira (Eds). Editorial InTech, Rijeka, Croacia. Chapter 13, pp. 285-305. ISBN 978-953-51-4773-2.

Parpinello, G.P., Versari, A., Chinnici, F., Galassi, S. (2009). A Relationship among sensory descriptors, consumer preference and color parameters of Italian Novello red wines. *Food Research International* 42, 1389–1395.

Schwarz M., Jerz G., Winterhalter P. (2003) Isolation and structure of pinotin A, a new anthocyanin derivative from pinotage wine. *Vitis* 42: 105-106

Simes, A.B., Maturano, R. del C., Tassile, V., Caballero, A.C., del Mónaco, S.M. (2016). Molecular and kinetic characterization of the fermentative behavior of *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from North Patagonia. *Advances in Microbiology* 6, 733-744.

Suárez-Lepe, J.A., Morata, A. (2012). Trends in Food Science Technology 23: 39-50

Tofalo R, Perpetuini G., Schirone M., Fasoli G., Aguzzi I., Corsetti A and Suzzi Giovanna (2013) *Frontiers in Microbiology* 4: 1-13

08TCA. Revalorización del yacón como fuente de fruto-oligosacáridos (FOS) para la formulación de mermeladas de alto valor nutricional reducidas en calorías

Revaluation of yacon as a source of fruit-oligosaccharides (FOS) for the formulation of high nutritional value reduced calorie jams.

Fátima de la Paz Pérez⁴, Mariana Belén Laborde^{1,2}, María Belén Bax¹, Ana María Pagano³

1. CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas). Argentina. 2. CIN (Consejo Interuniversitario Nacional). Argentina. 3. Núcleo TECSE, Depto. Ingeniería Química y Tecnología de Alimentos, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNICEN). Av. del Valle 5737, 7400 Olavarría, Argentina. Email: apagano@fio.unicen.edu.ar

Resumen

En este trabajo se desarrolla un producto innovador: mermelada de alto valor nutricional en base a arándano y reducida en calorías en base a yacón –rico en fruto-oligosacáridos (FOS)- empleado como edulcorante natural en reemplazo de distintas proporciones (0, 25, 50, 75%) de la sacarosa de la formulación tradicional. Los productos presentaron mayores sólidos solubles (°Brix) a menor reemplazo de azúcar por yacón. En todos los casos el pH fue inferior a 4,5 asegurando la ausencia de *Clostridium botulinum*, hongos y levaduras, confirmado mediante análisis microbiológico. La evaluación sensorial de los atributos sabor a arándano, dulzor, textura, untuosidad y aceptabilidad global definió que la mermelada más aceptada por los consumidores fue la formulación tradicional, seguida de las mermeladas con reemplazos de azúcar por yacón en proporciones de 25% y 50%; esta tendencia se repitió en el conteo de los potenciales compradores del producto, que estuvieron directamente relacionados con la aceptabilidad sensorial de los productos. En función de estos resultados es posible concluir que se logró desarrollar una mermelada de arándano y yacón reducida en calorías y beneficiosa para la salud sin modificar significativamente ($\alpha=0,05$) las propiedades sensoriales respecto de la mermelada tradicional en base a sacarosa.

Palabras clave: Yacón, Mermelada, FOS, Alto Valor Nutricional.

Abstract

In this work an innovative product is developed: jam of high nutritional value and reduced in calories based on cranberry and yacon (source of fructo-oligosaccharides, FOS), used as a natural sweetener in replacement of different proportions (0, 25, 50, 75%) of the sucrose of the traditional formulation. The products presented higher soluble solids (°Brix) for the lower replacements of sugar by yacon. In all cases the pH was below 4.5 ensuring the absence of *Clostridium botulinum*, fungi and yeast, confirmed by microbiological analysis. The sensory evaluation of blueberry flavor, sweetness, texture, smoothness and global acceptability attributes defined that the most accepted marmalade by consumers was the traditional formulation, followed by marmalades with sugar replacements by yacon in proportions of 25% and 50%. This trend was repeated in the counting of the potential buyers of the product, which were directly related to the sensory acceptability of the products. These results showed that it is possible to develop a low calorie, healthy and high nutritional value cranberry and yacon jam, without significantly modifying ($\alpha=0,05$) the sensory properties with respect to the traditional jam based on sucrose.

Keywords: Yacon, Jam, FOS, High Nutritional Value.

1. Introducción

Según datos de FAO, en América Latina un 23% de la población es obeso, un 38% tiene sobrepeso, y la incidencia de la diabetes está en aumento (se prevé que los casos crezcan casi un 60% en Centro y Sudamérica de aquí a 2035). En la Argentina, según la última Encuesta Nacional de Factores de Riesgo, 6 de cada 10 personas adultas tienen sobrepeso y 2 de cada 10 tienen obesidad. Esta tendencia se repite en jóvenes de entre 13 y 15 años, donde 1 de cada 3 presenta exceso de peso y casi el 6% padece obesidad (Ministerio de Salud de la Nación, 2012).

En relación al consumo mundial per cápita de azúcar, el último informe anual de la Organización Mundial del Azúcar ha reportado que ascendió a 25,1 kg/año en 2013-2014, casi un kilogramo más que en 2012-2013. La OMS aconseja que el consumo de azúcares libres o agregados (distintos a los que contienen naturalmente frutas y verduras) no supere el 10% (50 g) de la ingesta calórica total diaria, sugiriendo preferentemente reducirlo a menos del 5% a fin de obtener beneficios adicionales. Las directrices de la OMS tienen por objetivo orientar a los países sobre cómo reducir problemas de salud pública; concretamente en el caso del azúcar apuntan a la obesidad y también a la caries dental.

El consumo excesivo de azúcar genera grandes problemas en la salud: suprime el sistema inmunológico y deteriora las defensas contra enfermedades infecciosas (Sánchez et al., 1973); causa un aumento rápido de adrenalina, hiperactividad, ansiedad, dificultad de concentración y mal humor en los niños (Godlman et al., 1986); alimenta las células de cáncer de mama, ovarios, próstata, recto, páncreas, zona biliar, pulmón y estómago (Cornee et al., 1995); causa una disminución de sensibilidad de insulina que ocasiona niveles anormalmente altos de insulina y eventualmente diabetes (Reiser et al., 1986), entre otras. Hay muchos países que han tomado ya medidas en pro de una alimentación más saludable. Hoy en día, los consumidores se interesan cada vez más por el cuidado de su salud y su bienestar. Como respuesta a esa demanda, la industria alimentaria coloca en el mercado productos como los alimentos “Light” o “Bajo en calorías” diseñados para responder a expectativas concretas del consumidor.

Atento a ello, en este trabajo se plantea el desarrollo un producto innovador de alto valor nutricional y reducido contenido calórico basado en el reemplazo del azúcar común (sacarosa) empleado en las formulaciones tradicionales por un edulcorante natural —el yacón— en la elaboración de una mermelada de arándano y yacón.

El yacón es un cultivo de origen andino apreciado por los carbohidratos almacenados en sus raíces, como son la inulina y los fructo-oligosacáridos (FOS) (Asami et al., 1991; Kamada et al., 2001; Pedreschi et al., 2003; Inga Guevara et al., 2015), que proporcionan sólo un cuarto del valor calórico de los azúcares comunes, son reconocidos como fibra dietética y se emplean en alimentos funcionales y nutracéuticos.

Los FOS presentes en la raíz del yacón pertenecen a los azúcares conocidos como fructanos. En la naturaleza existen diversos tipos de fructanos, pero para la industria alimentaria y la nutrición se considera que los más importantes son la inulina y los FOS (Kirk et al., 1975; Montes, 1985). La inulina casi no tiene sabor dulce. Los FOS son muy solubles en agua, tienen un ligero sabor dulce (entre un 30 y 50% del sabor de la sacarosa) y pueden ser utilizados como sustituto hipocalórico del azúcar común (Seminario et al., 2003).

A diferencia de los azúcares comunes que se absorben en el intestino delgado en forma de glucosa, los FOS son resistentes a la digestión, pasan directamente al colon donde se fermentan por completo hasta formar ácidos grasos de cadena corta; por eso los FOS no tienen incidencia en la elevación de los niveles de glucosa en sangre. Además, estimulan el crecimiento de bifidobacterias reconstituyendo la microflora intestinal, y se considera, por ello, un alimento prebiótico asociado a una serie de propiedades benéficas sobre la salud (Asami et al., 1991; Graefe et al., 2003).

El arándano tuvo un masivo crecimiento en los últimos años en virtud de sus bondades en la salud que hacen que sea considerado como la “súper fruta del siglo 21”. Se utiliza para combatir la diabetes, como antibiótico, antiinflamatorio, antidiarreico, para problemas de visión y en la prevención de ciertos tipos de cáncer (Torres Nosa, 2013). La Food and Drug Administration (FDA) resume el valor nutricional del arándano como entre bajo y libre de grasas y sodio, libre de colesterol y rico en fibras, refrescante, tónico, astringente, diurético y con vitamina C, además de ácido hipúrico, lo que determina que sea una fruta con muchas características deseables desde el punto de vista nutricional. Posee además abundantes pigmentos naturales (antocianos y carotenoides) de acción antioxidante que intervienen en el metabolismo celular humano disminuyendo la acción de los radicales libres. Brinda un importante aporte de vitamina C, lo que potencia el sistema inmunológico o de defensas del organismo y contribuye a reducir el riesgo de enfermedades degenerativas, cardiovasculares e incluso del cáncer, además de favorecer la absorción del hierro de los alimentos, por lo que mejora o previene la anemia ferropénica.

Otro beneficio del consumo de arándanos se da a nivel del colesterol y del corazón, que su gran poder antioxidante aumenta el HDL colesterol asociado a una disminución en la probabilidad de sufrir afecciones cardíacas (Torres Nosa, 2013). Y también extensivamente se recomienda para prevenir las infecciones en las vías urinarias a través de un mecanismo que inhibe la adhesión de bacterias a las células uroepiteliales. Esta fruta también contiene altas cantidades de quercetina, compuesto famoso por reducir el riesgo de cáncer de próstata, colon y mama. Parecen infinitos los beneficios de esta fruta; tantos como la cantidad de estudios que hay sobre ella.

Desde el punto de vista tecnológico, el arándano es apto para el desarrollo de mermeladas debido a su contenido de pectinas de valor medio de metoxilación lo que le confiere poder de gelificación (Torres Nosa, 2013). La pectina está compuesta por ácidos pectínicos de elevado peso molecular que se dispersan en agua. Algunos de los grupos carboxilos a lo largo de la cadena de ácido galacturónico están esterificados con metanol. Según con el grado de esterificación, las pectinas se clasifican como de alto metoxilo o bajo metoxilo. La mayoría de las frutas contienen pectinas con alto valor de metoxilo. Para formar un gel, se debe reducir la atracción de las moléculas de pectina por el agua y aumentar la atracción de las moléculas de las pectinas entre sí. Esto se consigue con la adición del azúcar. Los azúcares compiten por el agua, haciendo que esté menos disponible para asociarse con las moléculas de pectina (Vaclavik, 1998). La formación del gel ocurre solamente dentro de un estrecho rango de pH. Las condiciones óptimas de pH para la formación del gel se encuentran cerca de 3,5. A valores menores de éste la resistencia del gel disminuye lentamente; mientras que a valores mayores de 3,5 no es posible la formación del gel en el rango usual de sólidos solubles.

En este proyecto de innovación se emplearon raíces de yacón y arándanos para el desarrollo de una mermelada de reducido contenido en sacarosa y con aporte FOS aprovechando el poder gelificante del arándano.

2. Materiales y métodos

Materias primas

Se emplearon raíces yacón y arándanos de producción nacional, seleccionados manualmente por estado de madurez, libres de daños, defectos o lesiones en la piel y en las capas superficiales.

Formulación de mermeladas de arándano y yacón

Para la elaboración de las diferentes formulaciones de mermelada se partió de la fórmula tradicional que se utiliza en un Establecimiento Elaborador de la localidad de French, habilitado por la Municipalidad de 9 de Julio (Provincia de Bs. As., Argentina).

La mermelada de arándano tradicional contiene en su formulación 1 kg de arándano y 0,8 kg de azúcar común (sacarosa), llegando al punto final de la mermelada con 65 °Brix.

Sobre la base de esta información se plantearon las cinco formulaciones a elaborar que se presentan en la Tabla 1, las cuales corresponden a diferentes fracciones de sustitución de azúcar por edulcorante. Estas formulaciones se propusieron en base a pruebas preliminares realizadas con la finalidad de ir evaluando paulatinamente desde el punto de vista técnico la factibilidad de obtención de un producto de características deseables para una mermelada. Esta etapa permitió establecer los niveles de reemplazo planteados en el diseño experimental sobre una base con menor grado de incertidumbre acerca de los resultados que se lograrían al final del proceso.

Tabla 1. Formulaciones de las mermeladas de arándanos y yacón.

Formulación	A (kg)	S (kg)	Y (kg)	SP (ppm)	BS (ppm)
M1	0	1	0,8	0,0	270
M2	25	1	0,6	0,2	270
M3	50	1	0,4	0,4	270
M4	75	1	0,2	0,6	270
M5	100	1	0,0	0,8	270

A: arándano; S: sacarosa; Y: yacón; SP: sorbato de potasio; BS: benzoato de sodio; M1, M2, M3, M4, M5: distintas formulaciones.

La mermelada de 65°Brix de la formulación tradicional en base a azúcar es un producto estable de humedad intermedia (actividad acuosa $a_w=0,8$) por lo que está protegida considerablemente frente a las posibles alteraciones causadas por microorganismos, dado que éstos sólo pueden desarrollarse a altos valores de a_w (por encima de 0,9 para bacterias; 0,75 para hongos y sobre 0,85 para levaduras) (Schmidt-Hebbel, 1990).

Las mermeladas bajas en calorías cuyo edulcorante natural ha sido reemplazado, son más susceptibles al desarrollo y contaminación por microorganismos, por lo cual en su elaboración es conveniente introducir alguna sustancia conservante. Los conservantes son sustancias que se añaden a los productos alimenticios prevenir su deterioro evitando de esta

manera el desarrollo de microorganismos (principalmente hongos y levaduras) y protegiéndolos de alteraciones biológicas, como fermentación, enmohecimiento y putrefacción. No deben ser tóxicos ni perjudiciales para la salud, no deben utilizarse para enmascarar alimentos en mal estado y deben ser de fácil identificación analítica. Los conservantes químicos más utilizados en la elaboración de mermeladas y conservas de frutas son el sorbato de potasio y el benzoato de sodio.

El Benzoato de Sodio (E211) actúa sobre hongos y levaduras. Es el más utilizado en la industria alimentaria por su menor costo, pero tiene mayor grado de toxicidad sobre las personas, también en ciertas concentraciones produce cambios en el sabor del producto (Coronado, 2001). Es un preservante antimicrobiano de color blanco del tipo polvo cristalino, copos o gránulos, casi inodoro: Sólo es efectivo en condiciones ácidas ($\text{pH} < 3,6$). El Código Alimentario Argentino (CAA) determina que la cantidad máxima permitida en el producto final (mermelada) no debe superar 300 ppm (CAA, 2012).

El Sorbato de Potasio (E202) es un conservante bactericida y fungicida. Su costo es aproximadamente 5 veces más que el benzoato de sodio (Coronado, 2001). Es muy eficiente, no es tóxico para el hombre, su uso es seguro, actúa sobre bacterias, hongos y levaduras, excepto en el crecimiento de bacterias lácticas, sin afectar el olor ni el sabor de los productos en los cuales es agregado. El CAA determina que la cantidad máxima permitida en el producto final (mermelada) no debe superar 300 ppm (CAA, 2012).

Estos dos conservantes, que son los utilizados en la elaboración de la mermelada tradicional del Establecimiento de referencia en las proporciones que aparece en la Tabla 1, son los que se seleccionan también para las nuevas formulaciones propuestas para las mermeladas de arándano y yacón.

Una vez obtenidas las diferentes formulaciones, se llevó a cabo el proceso de elaboración de las mermeladas, organizando las actividades según el siguiente diagrama de flujo (Figura 1), donde se explican cada una de las etapas de la elaboración.



Figura 1. Diagrama de flujo del proceso de elaboración.

Caracterización de las materias primas

En las materias primas raíces de yacón y arándanos se determinó el pH y el contenido de sólidos solubles.

Procedimiento experimental

Lavado y desinfección: El lavado se realizó con agua potable por inmersión directa durante 10 minutos. Seguidamente realizó la desinfección con solución de hipoclorito de sodio en concentración de 50 a 100 ppm, durante un tiempo de inmersión no menor a 15 minutos. Finalmente la fruta se enjuagó con abundante agua potable.

Pelado y trozado: Las raíces de yacón se pelaron manualmente utilizando pelapapas. Luego se efectuó el trozado con la finalidad de lograr uniformidad en la penetración de calor durante la cocción.

Pesado de ingredientes: Todos los ingredientes sólidos (arándanos, yacón, azúcar y conservantes) se pesaron en balanza digital (precisión $\pm 0,1$ g).

Pre-cocción: Para favorecer el ablandamiento de las frutas y la extracción de la pectina se realizó un proceso de pre-cocción suave durante 45 minutos antes de añadir el azúcar.

Cocción: En la etapa de la cocción se añadió el azúcar, la cual se desdobló en parte en sus componentes, fructosa y glucosa, permitiendo dos efectos importantes en el producto: mayor solubilidad (que evita la cristalización ulterior) y por otra parte, mayor dulzor.

Asimismo, durante el proceso de cocción se realizó una homogeneización de la mezcla con una procesadora manual, con la finalidad de que el producto presente iguales propiedades en todos sus puntos. La cocción del producto se concentró a temperaturas entre 60 – 70 °C, teniendo como objetivo conservar mejor las características organolépticas de la fruta.

Durante el proceso de cocción, a intervalos regulares se controlaron -además de la temperatura de la mezcla- las variables contenido de sólidos solubles y pH.

El punto final de la mermelada se estableció cuando se alcanzó un contenido de sólidos solubles entre 65 y 67 °Brix, momento en el cual se detuvo la cocción. Los conservantes (sorbato de potasio, benzoato de sodio) se agregaron una vez llegado al punto final de la mermelada, antes de realizar el envasado en caliente.

Envasado: La etapa del envasado se realizó en caliente, a una temperatura no menor a los 85 °C, empleando envases de vidrio de 450 g de capacidad previamente esterilizados. El llenado se realizó dejando un espacio de cabeza de 0,5 cm e inmediatamente se cerró la tapa tipo media rosca (“Twist off”).

Esterilización: Se utilizó una olla de esterilización y su canasto donde se colocaron los envases llegando a 100 °C con el Baño María, temperatura que se mantuvo durante 10 minutos (INTI, 2009), extrayéndose luego los frascos del baño para su enfriamiento.

Análisis fisicoquímicos

Determinación de sólidos solubles: El contenido de sólidos solubles a 25 °C fue evaluado mediante un refractómetro portátil con compensación de temperatura (precisión $\pm 0,01$ °Brix), por duplicado.

Determinación de pH : La determinación del pH se realizó con un potenciómetro o pHmetro digital de bulbo marca Hanna compensado por la temperatura (precisión $\pm 0,1$), por duplicado.

Análisis microbiológicos

Para realizar el análisis bacteriológico de las distintas muestras de mermeladas de arándano y yacón reducidas en calorías, se empleó el método horizontal para el recuento de levaduras y mohos, basado en la norma ISO 7954.

Análisis sensorial

Para llevar a cabo el análisis sensorial de las diferentes muestras de mermeladas de arándano y yacón reducidas en calorías, se reclutaron 30 consumidores de mermeladas a través de una encuesta de reclutamiento diseñada a tal fin (Figura 2), teniendo en cuenta el consumo de mermeladas, de arándanos, y edulcorante.

El análisis sensorial se realizó en la Facultad de Ingeniería (UNICEN) con un panel conformado por docentes y alumnos. Las muestras se codificaron con 3 dígitos. El orden de presentación de las muestras fue balanceado. Las planillas de aceptabilidad (Figura 4) para se basó en una escala Hedónica de 9 puntos (desde 1: me disgusta mucho hasta 9: a me gusta mucho) evaluando: sabor a arándano, dulzor, textura, untuosidad y aceptabilidad global. Adicionalmente se les preguntó a los evaluadores si ellos comprarían las distintas formulaciones de mermeladas de arándano y yacón reducidas en calorías.

Planilla de reclutamiento

Nombre: _____ Edad: _____
Teléfono: _____ Departamento: _____

Lee las preguntas y contesta:

- ¿Cada cuánto consume mermelada?
Sí No
- ¿Podría decirme qué clases de mermelada ha tenido en su casa en los últimos doce meses?
Frutilla Naranja Arándano Durazno
- ¿Qué tipo de productos "light" consume?
Dulce de leche Gelatina de frutilla Mermelada
- Si consume arándanos, ¿de qué forma los ingiere?
Frescos Mermelada Gelatina Tartas
- Al endulzar un alimento y/o bebida, ¿con qué lo hace?
Azúcar Edulcorante

(Estas es dispuesto a realizar una degustación de alimentos que durará 20 minutos aproximadamente?)
Sí No

Figura 2. Planilla de reclutamiento de consumidores.

Figura 3. Planilla para la evaluación sensorial de las mermeladas.

Análisis estadístico

Para analizar los resultados del ensayo de aceptabilidad se realizó un análisis de varianza de dos factores con una sola muestra, con un nivel de significación del 5%, para cada atributo, mediante Microsoft Excel 2010.

En caso de existir diferencias entre las muestras, se analizaron los resultados mediante el método de Mínima Diferencia Significativa (MDS), indicando las diferencias entre cada uno de los atributos evaluados entre las muestras.

3. Resultados y Discusión

Las Tablas 2, 3 y 4 presentan respectivamente los resultados de las determinaciones físico-químicas, microbiológicas y de atributos sensoriales de las distintas formulaciones de mermeladas evaluadas.

Tabla 2. Resultados medios de la evaluación físicoquímica de las mermeladas.

Formulación	°Brix	pH
M1	70,55	3,63
M2	60,15	4,09
M3	51,20	4,20
M4	31,65	4,23
M5	16,70	4,37

Tabla 3. Resultados de la evaluación microbiológica de las mermeladas.

Determinaciones	Valores obtenidos					Metodología
	M1	M2	M3	M4	M5	
Hongos y levaduras/g	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	ISO 7954
N/D: no detectado.						

Tabla 4. Resultados de la evaluación sensorial de las mermeladas.

	sabor arándano	dulzor	textura	untuosidad	aceptabilidad global
M1	8,1 ^a	8,3 ^a	7,8 ^a	8,1 ^a	8,1 ^a
M2	7,5 ^b	6,7 ^b	6,6 ^b	7,5 ^b	7,5 ^b
M3	7,0 ^{b,c}	6,1 ^{b,c}	6,2 ^b	7,0 ^{b,c}	7,0 ^{b,c}
M4	6,6 ^{c,d}	5,6 ^c	6,1 ^b	6,6 ^{c,d}	6,6 ^{c,d}
M5	6,1 ^d	4,3 ^d	5,0 ^c	6,1 ^d	6,1 ^d

Nota: letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$), según test de Tukey.

Las mermeladas con mayor porcentaje de °Brix fueron la formulación tradicional (M1) y 25% de reemplazo (M2) con mayor contenido de sacarosa (Tabla 2). La mermelada elaborada solamente con edulcorante natural (M5) fue la de menor concentración de °Brix (Tabla 2), ya que el yacón no contribuye al aumento de sólidos solubles.

Las diferentes mermeladas presentaron un valor de pH ácido por debajo del valor de 4,5 garantizando la ausencia de *Clostridium botulinum*, hongos y levaduras, que se confirmó por análisis microbiológico (Tabla 3).

Sabor a arándano

En este atributo los consumidores determinaron que existen diferencias significativas entre la aceptabilidad de las distintas formulaciones (Tabla 4). La mermelada que más gustó en este atributo sensorial fue la formulación tradicional (M1), seguida de las mermeladas con reemplazos de azúcar en 25% (M2) y 50% (M3). Si bien estas últimas formulaciones tuvieron menor aceptabilidad que la tradicional, estas diferencias resultaron pequeñas considerando el rango de escala sensorial que se utilizó (1-9 puntos). Las mermeladas con reemplazo de azúcar por yacón en 75% (M4) y 100% (M5) fueron las menos aceptadas en "sabor a arándanos" por parte de los consumidores.

Dulzor

En el atributo "dulzor" se observó que todas las formulaciones tuvieron aceptabilidades diferentes

(Tabla 4). La mermelada que presentó mayor aceptabilidad en “dulzor” fue la mermelada M1 formulada a base de sacarosa, seguida de las mermeladas M2 y M3 reemplazadas 25% y 50% en su contenido de azúcar por yacón, respectivamente. Al igual que en “sabor a arándanos”, las mermeladas que menos gustaron en el aspecto “dulzor” fueron las de 75% y 100% de sustitución por edulcorante natural yacón.

Textura

En cuanto a la propiedad “textura” hubo diferencias significativas en la aceptabilidad de las distintas formulaciones (Tabla 4). La textura que más gustó correspondió a la mermelada tradicional, seguida por las mermeladas reemplazadas por yacón en 25%, 50% y 75%. Entre estas tres últimas formulaciones no hubo diferencias significativas en la aceptabilidad en cuanto a la textura. La diferencias de aceptabilidad entre la “textura” de la mermelada tradicional y la de 25% fue pequeña (13,33%), correspondiendo a 1,2 puntos en una escala de 9 puntos. La mermelada menos aceptada por su textura fue la del 100% de reemplazo de la sacarosa y ésto puede deberse a la consistencia fibrosa muy marcada que presentó esta formulación, aportada directamente por el elevado contenido de yacón.

Untuosidad

Al igual que para textura, “la untuosidad” que más gustó fue la de la mermelada tradicional (M1), seguida de la formulación con 25% (M2) de yacón, aunque con menores diferencias (8,8%) de promedios entre ambas (0,8 puntos en una escala de 9) (Tabla 4). Las mermeladas que tuvieron menor aceptabilidad por su “untuosidad” fueron las 75% de reemplazo y 100% de reemplazo (M4 y M5), debido, como se argumentó anteriormente, a la presencia abundante de fibras de yacón que le restó la característica de untuosidad a la mermelada.

Aceptabilidad global

Para evaluar la “aceptabilidad global”, los consumidores debieron considerar todos los atributos descriptos anteriormente y demás características que ellos consideraran importantes a tener en cuenta a la hora de evaluar el grado de aceptabilidad del producto. La mermelada tradicional tuvo la mayor “aceptabilidad global”, seguida de la mermelada con 25% de yacón (M2) y diferenciándose sólo en 1 punto de aceptabilidad (Tabla 4). Los promedios obtenidos por estas dos formulaciones fueron elevados, correspondiendo 8,2 y 7,2 respectivamente, en una escala cuya puntuación máxima correspondió a 9. Las mermeladas con 50% y 75% de reemplazo fueron

medianamente aceptadas, ambas con igual promedio. La mermelada con 100% de yacón en lugar de la sacarosa (M5) fue la que menos gustó en general; sin embargo tuvo un promedio levemente por encima del valor medio en la escala hedónica de 9 puntos.

Compra del producto

En base a lo respondido por parte de los consumidores (Figura 4) se pudo observar que la formulación considerada como “tradicional” (M1: codificada 427) tuvo el mayor porcentaje de posibles compradores del producto, arrojando un 96,7%.

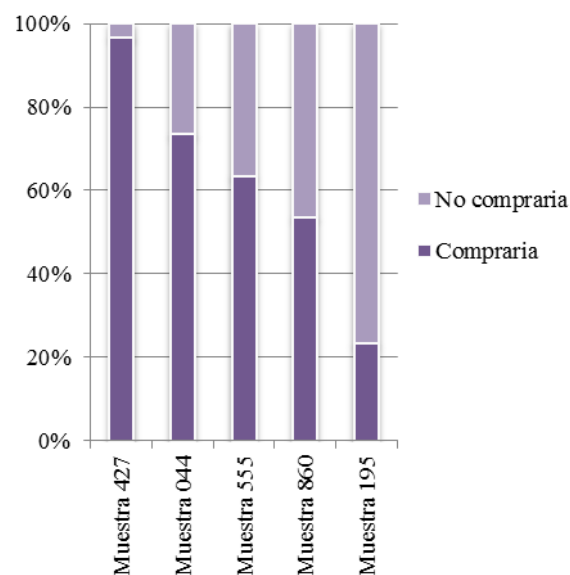


Figura 4. Opinión de los potenciales futuros consumidores de las mermeladas.

La mermelada conteniendo yacón en un 25% de reemplazo de azúcar (M2: código 044) potencialmente sería adquirida en el mercado por un 73,33% de los encuestados. Siguiendo el orden de aceptación por parte de los sujetos, la muestra que fue formulada con un 50% de reemplazo (M3: código 555) obtuvo un 63,33% de aceptación. En cambio, las que menos seleccionaron los consumidores para comprar fueron las mermeladas elaboradas con un reemplazo de azúcar del 75% (M4: código 860) y 100% (M5: código 195), correspondiendo respectivamente al 53,3% y 23,3% de los encuestados. Estos porcentajes están directamente relacionados con la aceptabilidad sensorial de los productos.

4. Conclusiones

Se desarrollaron cuatro formulaciones de mermelada de arándano y yacón bajas calorías, donde hubo sustitución del contenido de sacarosa por el

edulcorante natural, tomando como referencia la mermelada considerada "tradicional".

La determinación de los sólidos solubles arrojó valores mayores en aquellas formulaciones de mermeladas que presentaron menor reemplazo de azúcar por yacón (formulación tradicional y 25% de reemplazo). La mermelada que fue elaborada únicamente con edulcorante natural, formulación 100% reemplazo de azúcar por yacón, es la que manifestó menor concentración de grados Brix, ya que éste no favorece el aumento de sólidos solubles. En cuanto a la determinación de pH, las distintas muestras de mermelada presentaron un valor de pH ácido, ubicándose por debajo del valor de 4,5 y asegurando ausencia de *Clostridium botulinum*, hongos y levaduras (confirmado por análisis microbiológicos).

A medida que se reemplazó el porcentaje de azúcar por yacón aumentó el valor del pH de las formulaciones ya que éste modificó la acidez del arándano y disminuyó la acidez de la mermelada.

Las distintas formulaciones de mermeladas presentaron estabilidad microbiológica, ya que no se detectó presencia de hongos y levaduras, debido a la evaporación de agua que se produjo en la etapa de cocción, a la incorporación de conservantes químicos y al proceso de esterilización a baño maría que sufrieron las mermeladas.

En lo que respecta a la evaluación sensorial, la mermelada que más gustó a los consumidores en los atributos sabor a arándano, dulzor, textura, untuosidad y aceptabilidad global fue la formulación tradicional, seguida de las mermeladas con reemplazos de azúcar en 25% y 50%. Las formulaciones restantes, 75% y 100% de reemplazo de azúcar por yacón, tuvieron menor aceptabilidad en dichos atributos sensoriales. Esta tendencia se repitió en los posibles compradores del producto, estos porcentajes están directamente relacionados con la aceptabilidad sensorial de los productos.

En función de un análisis integral del conjunto de todos los resultados en cuanto a la evaluación de los productos desarrollados, se establece que la elaboración de mermelada de arándano y yacón con un reemplazo del contenido de azúcar por el edulcorante natural en un 50% es una formulación que puede ser considerada óptima desde el punto de vista fisicoquímico, sensorial, microbiológico y económico del proceso de elaboración, considerada baja en calorías, ya que sufrió una sustitución del 35,21% de la sacarosa que contiene, y siendo beneficiosa para la salud.

5. Referencias

Asami, T.; Minamisawa, K.; Tsuchiya, T.; Kano, K.; Hon, I.; Ohya, I.; Kubota, M.; Tsukihashi, I. (1991). *Fluctuation of oligofructan contents in tubers of yacon (Polymnia sonchifolia) during*

growth and storage, Soil Science and Plant nutrition 62, 621-627.

CAA. (2012). Código Alimentario Argentino. Capítulo III. De los productos alimenticios. ANMAT. Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/Capitulo_III.pdf. Consultado: 17/02/15.

Código Alimentario Argentino (2012). Capítulo X. Alimentos Azucarados. ANMAT. Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/Capitulo_X.pdf. Consultado: 20/10/15.

Cornee, J.; Pobel, D.; Riboli, E.; Guyader, M.; Hémon, B. (1995). *A case-control study of gastric cancer and nutritional factors in Marseille, France*, European Journal of Epidemiology 11, 55-65.

Coronado, M. (2001). *Elaboración de mermeladas. Procesamiento de alimentos para pequeñas y microempresas agroindustriales*. Centro de Investigación, Educación y Desarrollo. Editorial: CIED.

Goldman, J.; Lerman, R.H.; Contois, J.H.; Udall, J.N. Jr. (1986). *Behavioral effects of sucrose on preschool children*, Journal of Abnormal Child Psychology 14(4), 565-570.

Graefe, S.; Hermann, M.; Manrique, S.; Buerkert, A. (2003). *Effects of post-harvest treatments on the carbohydrate compositions of yacon roots in the Peruvian Andes*, Field Crops Research 86, 157-165.

Grau, A.; Rea, J. (1997). *Yacon, Smallanthus sonchifolius. (Poepp&Endl) H. Robinson*. En: Hermann, M & Heller, J (Editors). *Andean root and tuber: ahupa, arracacha, maca and yacón*. IPK and IPGRI, Rome, 200-242.

Inga Guevara, M.; Betalleluz Pallardel, I.; Kina Noborikawa, M.; Campos Gutierrez, D. (2015). *Optimización del proceso de extracción de los fructooligosacáridos de yacón (Smallanthus sonchifolius)*, Rev Soc Quím Perú 81(3), 263-272.

INTI. (2009). *Cuadernillo para unidades de producción. Mermeladas, confituras y jaleas*, Instituto Nacional de Tecnología Industrial, 2° Edición. Buenos Aires.

ISO 7954. Método horizontal para el recuento de levaduras y mohos.

Kamada, T.; Nikajima, M.; Nabetani, H. (2001). *Separation and concentration of oligosaccharides from chicory and yacon rootstocks by ultrafiltration*

and nanofiltrations. 11th World Congress of Food Science, Seoul (Korea), 22-27

Kirk, R.E.; Othmer, D.F.; Scott, J.D.; Standen, A. (1975). *Enciclopedia de Tecnología Química*. México. Unión Tipográfica. Editorial Hispano-Americana. Tomo XIII.

Ministerio de Salud de la Nación. *Encuesta Mundial de Salud Escolar* (2012). Disponible en: http://www.msal.gob.ar/ent/images/stories/vigilancia/pdf/2014-09_informe-EMSE-2012.pdf Consultado: 23/02/16.

Montes, A.L. (1985). *Bromatología*. Editorial Universitaria de Buenos Aires. Tomo II.

Pedreschi, R.; Campos, D.; Noratto, G.; Cisnero-Zeballos, L. (2003). *Andean yacon roots (Smallanthus sonchifolius Poepp. Endl) fructooligosaccharides potential novel source of prebiotics*, J. Agric. Food Chem. 51(18), 5278-5284.

Reiser, S.; Hallfrisch, J.; Fields, M. et al. (1986). *Effects of sugars on indices on glucose tolerance in humans*, American Journal of Clinical Nutrition 43, 151-155.

Sánchez, A.; Reeser, J.L.; Lau, H.S.; Yahiku, P.Y.; Willard, R.E.; McMillan, P.J.; Cho, S.Y.; Magie, A.R. (1973). *Register UD. 1973. Role of sugars in human neutrophilic phagocytosis*, American Journal of Clinical Nutrition 261, 1180-1184.

Schmidt-Hebbel, A. (1990). *Avances en aditivos alimentarios y la reglamentación de los alimentos. Aplicación y comentarios de orden químico y tecnológico*. Santiago. Chile. Fundación Chile. Editorial Universitaria.

Seminario, J.; Valderrama, M.; Manrique, I. (2003). *El yacón: fundamentos para el aprovechamiento de un recurso provisorio*. Centro Internacional de la Papa (CIP), Universidad Nacional de Cajamarca, Agencia Suiza para el desarrollo y la Cooperativa (CODESU).

Tapia, A.M.; Pérez Aramayo, M.; Medina, E.R.; Morón, C. (2000). *Manual sobre Utilización de los Cultivos Andinos*. Sub-explotados en la Alimentación. FAO.

Torres Nosa, M. (2013). Propiedades del arándano. Disponible en: http://marcelo-torres-nosa.idoneos.com/propiedades_del_arandano/. Consultado: 17/02/15.

Vaclavik, V. (1998). *Fundamentos de las ciencias de los alimentos*. Capítulo 5: pectinas y otros carbohidratos. Página 63-78 Editorial Acriba, S.A.

09TCA. Modelado numérico computacional de la pasteurización aplicada a una mermelada de uva bajas calorías con azúcares sustituidos por *Stevia*

Computational numerical modeling of the pasteurization applied to a low-calorie grape jam with sugars replaced by *Stevia*

Mariana B. Laborde^{1,3}, Gastón Barreto^{1,2}, Ana M. Pagano³.

1. CONICET. Argentina. 2. Depto. Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNICEN). 3. Núcleo TECSE, Depto. Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería UNICEN. Av. del Valle 5737, 7400 Olavarría, Buenos Aires, Argentina. Email:apagano@fio.unicen.edu.ar.

Resumen

Este trabajo se enfoca al desarrollo de un modelo numérico computacional para predecir la temperatura del centro térmico durante la pasteurización de una mermelada de uva bajas calorías con azúcares sustituidos por *Stevia*. El modelo numérico, basado en el método de los elementos finitos, fue desarrollado para simular la transferencia de calor por conducción durante el tratamiento térmico en la pasteurización a baño maría del producto envasado en un contenedor de vidrio hermético con tapa twist off. Para el alimento se utilizaron propiedades dependientes de la temperatura en función de su composición proximal determinada experimentalmente. Las predicciones del modelo fueron comparadas con datos observados de la temperatura en el centro térmico obtenidos mediante un dispositivo experimental con tipo termocupla K, encontrándose adecuada concordancia, especialmente en la región de la temperatura prefijada para un adecuado proceso de pasteurización.

Palabras clave: modelo numérico computacional, pasteurización, elementos finitos, mermelada bajas calorías.

Abstract

This work focuses on the development of a computational numerical model to predict the temperature of the thermal center during the pasteurization of a low-calorie grape marmalade with sugars replaced by *Stevia*. The numerical model, based on the finite element method, was developed to simulate the conduction heat transfer during the heat treatment in the bain-marie pasteurization of the product packed in a hermetic glass container with a twist off lid. For the food, temperature-dependent properties were used based on their experimentally determined proximal composition. The predictions of the model were compared with observed data of the temperature in the thermal center obtained by means of an experimental device with K-type thermocouple, finding suitable agreement, especially in the region of the temperature preset for an appropriate pasteurization process.

Keywords: Computational Numerical Model, Pasteurization, Finite Elements Method, Low-Calorie Jam.

1. Introducción

Argentina impulsa la creación de políticas públicas saludables, entre ellas se destacan la "*Estrategia Nacional para la Prevención y Control de Enfermedades no Transmisibles*" y el "*Plan Nacional Argentina Saludable*". Ambos promueven una dieta sana y variada. Entre sus líneas de acción, la de *Regulación de productos y servicios* destaca la reducción/sustitución de azúcares en alimentos procesados de alto consumo (Resolución N° 1083/2009, Ministerio de Salud Pública de la Nación, Argentina).

Atendiendo a esta línea, en este proyecto se desarrolla un producto modificado en cuanto a su composición de glucídica: una mermelada bajas calorías de uvas reducidas en azúcares y *Stevia*.

Según el Código Alimentario Argentino, se entiende por mermelada a la "*confitura elaborada por cocción de frutas u hortalizas (enteras, en trozos, pulpa tamizada, jugo y pulpa normal, o concentrada), con uno más edulcorantes permitidos*" (C.A.A., 2010).

Para la preparación de mermelada se procede a la selección de la fruta fresca, lavado, pelado, cortado y/o triturado, y pesado de las frutas u hortalizas. Luego, según su peso, se calcula y agrega, durante la cocción, edulcorante, gelificante, ácido cítrico y colorantes. La cocción culmina cuando se llega a una concentración de sólidos solubles de 37-39°Brix. Los pasos pueden variar dependiendo de la fruta empleada. Una vez alcanzado el punto final, se envasa inmediatamente en caliente. Los frascos se llenan dejando un centímetro del borde superior. Esto se denomina "espacio de cabeza", es muy importante para que el producto envasado en caliente pueda hacer vacío. Inmediatamente del llenado, los envases se tapan e invierten. Esta práctica asegura que el aire del espacio de cabeza, pase por la masa de producto caliente, provocando la pasteurización de ese aire. Además termina de evaporar en el fondo del frasco y al volver a la posición normal esa pequeña condensación queda en el fondo, sin oxígeno, por lo tanto las bacterias no podrán desarrollar. Hay que asegurarse que la mermelada esté a punto, caso contrario, aún con esta práctica desarrollarán fermentaciones.

La pasteurización es una alternativa útil para extender el período de vida de almacenamiento y conservación. Para la mermelada desarrollada, es una práctica aconsejable, ya que al no agregarse azúcar en la formulación, cuenta con una barrera menos de conservación comparado con la receta tradicional en base a sacarosa. Un elevado nivel de azúcar inhibe el desarrollo microbiano y la

degradación debido al incremento de la presión osmótica, lo que permite que los alimentos duren más tiempo. Para efectuar este tratamiento, se coloca en una olla una base de lienzo o madera, de tal modo que amortigüe el movimiento de los frascos, se ordenan con la tapa hacia arriba, evitando que queden espacios entre ellos, trabándolos de modo que cuando comience el hervor no se sacudan o golpeen, evitando de este modo la posible rotura de los envases. Se cubren con agua templada, hasta un nivel que quede no menos de 2-3 centímetros por sobre la tapa del envase. Se puede adicionar jugo de limón o ácido cítrico al agua del baño para evitar manchas que pudieran aparecer en el vidrio por la dureza del agua. La penetración del calor durante este tratamiento aplicado a alimentos envasados básicamente depende de la naturaleza del producto, que es la que determina el mecanismo de transmisión del calor. En líquidos de alta viscosidad, como es el caso de la mermelada, el calor se transmite por conducción y sucede en forma más lenta que en alimentos fluidos.

En este trabajo se estudia la transferencia de calor durante el tratamiento de pasteurización a 100°C en Baño María aplicado a una mermelada de uva bajas calorías con azúcares sustituidos por *Stevia* para asegurar la inocuidad del producto. Se desarrolla un modelo de simulación numérica basado en el método de los elementos finitos (MEF) para predecir la temperatura que se alcanza en el centro térmico del frasco de mermelada, y estimar el tiempo necesario para dicho tratamiento.

Este trabajo se enfoca a describir la transferencia de calor en la pasteurización de una mermelada de uva bajas calorías a través del modelado computacional, generando una herramienta versátil para predecir el tiempo de tratamiento necesario para la inactivación de los potenciales microorganismos presentes.

2. Materiales y métodos

Materias primas para elaboración de la mermelada

Las mermeladas se prepararon a base de uvas *cv. Red Globe* reducidas en azúcares calóricos obtenidas mediante un tratamiento previamente optimizado (Laborde et al., 2017), empleando en la formulación pectina de bajo grado metoxilo (GENU® pectin type LM-104-AS), ácido cítrico (Parafarm) y edulcorante natural sin calorías *Stevia* (Dulsevia) en reemplazo de la sacarosa de la receta tradicional.

Para obtener las uvas reducidas en azúcares, las uvas frescas –altamente ricas en glúcidos comparadas con otras frutas (Figura 1)- fueron lavadas por inmersión con agua potable a temperatura ambiente durante 10 minutos a fin de eliminar las ceras superficiales;

posteriormente fueron escurridas sobre papel absorbente.

Luego se sometieron a un proceso combinado de remoción de los azúcares mayoritarios propios de la uva –glucosa y fructosa, altamente energéticos- (Eyéghé-Bickong et al., 2012; Araneda, 2015). Durante este tratamiento optimizado que consiste en ósmosis asistida por ultrasonido (García-Noguera et al., 2010; Oliveira et al., 2012), las uvas frescas se llevaron a inmersión en agua destilada empleando una relación de fruta:solvente de 1:4 p/p, a temperatura ambiente, aplicando una frecuencia ultrasónica de 40 kHz durante 25 minutos. Mediante HPLC se confirmó que bajo estas condiciones de proceso fue posible reducir el contenido de fructosa de la uva en un 30% y el de glucosa en un 27% (Laborde et al., 2017).

Preparación de la mermelada bajas calorías

Las uvas reducidas en sus azúcares hipercalóricos glucosa y fructosa fueron trituradas con una multi procesadora manual y luego sometidas a un proceso de cocción hasta evaporar un tercio de su volumen inicial. En ese punto se adicionó la cantidad necesaria de ácido cítrico hasta lograr un pH de 3,5-3,6 (García-Martínez et al., 2002) y la pectina de bajo grado metoxilo (Morelli y Prado, 2012) como agente gelificante, previamente mezclada con el edulcorante natural *Stevia* en polvo para facilitar su disolución. La cocción se continuó hasta alcanzar una concentración de sólidos solubles de 40 °Brix (Codex Alimentarius, 2016).

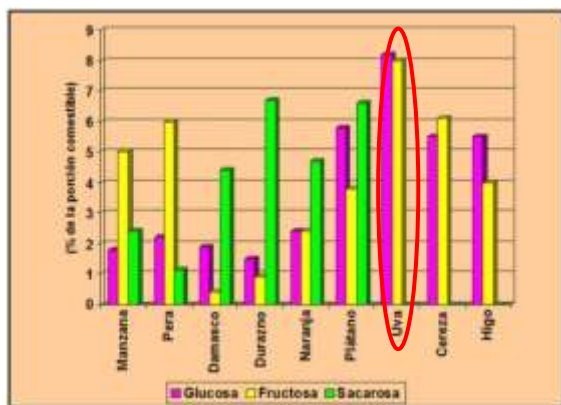


Figura 1. Contenido de los hidratos de carbono mayoritarios presentes en la uva comparativamente con los de otras frutas (Fuente: Aranera, 2015).

Inmediatamente después la mermelada se envasó en caliente (85°C) en los frascos de vidrio con tapa media rosca (*twist off*) esterilizados y atemperados en estufa a 60°C, dejando un espacio de cabeza de 5 mm, dejando luego en reposo hasta equilibrar la temperatura con el ambiente. Las dimensiones y

características de los envases utilizados se muestran en la Figura 2.

Pasteurización del producto

Según el nivel de acidez, los alimentos pueden ser clasificados en alimentos de alta acidez (pH < 4,0-3,7), alimentos ácidos (pH 3,7-4,0 a 4,6) y alimentos de baja acidez (pH > 4,6).

De acuerdo a esta clasificación, la mermelada desarrollada bajo las condiciones antes descriptas es de alta acidez, con lo cual la probabilidad de presencia de esporas de *Clostridium botulinum* sería poco significativa ya que esta bacteria no crece a pH inferior a 4,6 (Jay et al., 1992). Sin embargo, en este producto existe la posibilidad de desarrollo de otros microorganismos saprófitos habituales de la uva tales como los hongos termorresistentes *Byssochlamys fulva* y *Byssochlamys nivea* (Beuchat y Rice, 1979; Ferreira et al., 2011; Silva, 2015).

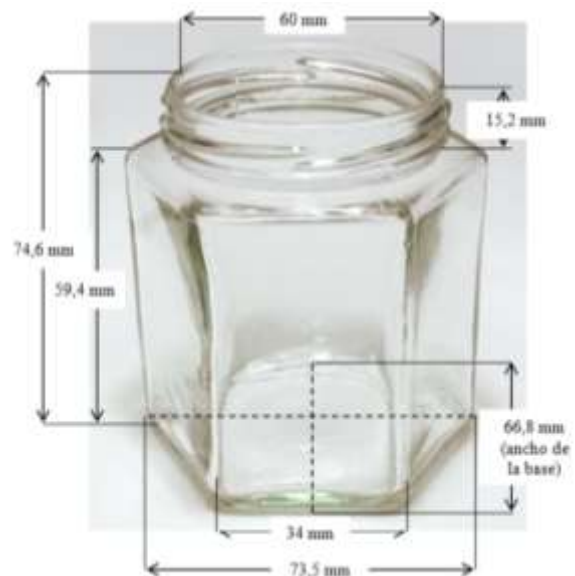


Figura 2. Imágenes del envase y de la tapa “twist off”.

Estas cepas fúngicas pueden crecer a muy bajas concentraciones de oxígeno (como las presentes en el espacio de cabeza de mermeladas envasadas herméticamente), permitiendo la producción de

enzimas degradadoras de la pectina, lo que lleva a pérdida de calidad tecnológica del gel. Teniendo en cuenta este microorganismo se procedió a estimar el tiempo necesario de pasteurización para la mermelada de uva en baño de agua (baño de maría).

Un estudio reportado por Ferreira et al. (2011) informa que se ha demostrado que un tratamiento a 98°C durante 27 minutos permite inactivar los hongos termo-resistentes *Byssoschlamys fulva* y *Byssoschlamys nivea* en néctares de frutas.

Atento a ello, en este trabajo se estudió experimentalmente la penetración de calor durante la pasteurización de la mermelada bajas calorías. Los envases se llevaron a una olla de aluminio recubierta con teflón de 5 L de capacidad, con agua como líquido de baño térmico, el cual se mantuvo a temperatura constante de 100 °C ± 2 °C. Como elemento calefactor se usó un anafe eléctrico regulable con potencia máxima de 2000 W. La temperatura del centro térmico se registró a intervalos regulares de 5 minutos.

Modelo de simulación numérica

La pasteurización de la mermelada de uva bajas calorías reducida en azúcares se asumió como un proceso de transferencia de calor por conducción no estacionario representado por la segunda ley de Fourier (Bird et al., 1976; Lespinard et al., 2012). Se trabajó sobre un dominio bidimensional axial-simétrico simplificando la complejidad del problema.

Ecuación de gobierno del problema de conducción

La ecuación que gobierna la transferencia de calor por conducción en el recipiente cilíndrico es:

$$\rho C_p \frac{\partial T}{\partial t} = \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left(r k \frac{\partial T}{\partial r} \right) + \frac{\partial}{\partial z} \left(k \frac{\partial T}{\partial z} \right) \quad (1)$$

donde: ρ : densidad (kg/m³); C_p : calor específico (kJ/kg °C); T : temperatura (°C); t : tiempo (s); r : coordenada radial del dominio (m); k : conductividad térmica (W/m °C); z : coordenada axial del dominio (m).

Condiciones iniciales

Para todo el dominio fue considerada una temperatura uniforme inicial T_0 :

$$T(r, z, 0) = T_0(r, z) \quad (2)$$

para $t = 0, 0 \leq r \leq R$ y $0 \leq z \leq H$

donde: R : radio medio del dominio (m); H : altura del dominio (m).

Condiciones de contorno

$$T = T_w \quad \text{para } r = R \text{ y } 0 \leq z \leq H \quad (3)$$

donde: T_w : temperatura de la pared del envase (°C), que se consideró constante.

Validación del modelo de simulación

El modelo de predicción fue validado por comparación de las temperaturas simuladas con las registradas experimentalmente mediante el empleo de una termocupla tipo "K" (Digital Multimeter M890G, China, rango -40-1000°C, resolución ± 1°C) ubicado en el centro térmico del envase.

Para evaluar el grado de concordancia entre los valores experimentales y simulados de la evolución temporal de la temperatura en el punto frío se determinaron los errores relativos medios absolutos a través de la Ecuación (4) (Lespinard et al., 2009).

$$\varepsilon_{\text{medio}} (\%) = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m \frac{|T_s - T_e|}{T_e} 100 \quad (4)$$

donde: $\varepsilon_{\text{medio}} (\%)$: error medio relativo porcentual; m : número de observaciones; T_s : temperatura simulada (°C); T_e : temperatura experimental (°C).

3. Desarrollo del modelo

Resolución del problema térmico por MEF

Para resolver la ecuación diferencial espacio-temporal que gobierna el proceso térmico en el dominio bidimensional axial-simétrico definido se llevó a cabo un análisis transitorio con el módulo de Transferencia de Calor General del software COMSOL Multiphysics 3.5a.

Definición del dominio

El dominio fue representado por una geometría 2D con simetría axial considerando todos los materiales que constituyen el producto: envase de vidrio, tapa twist-off de hojalata, mermelada de uva bajas calorías y aire del espacio de cabeza (Figura 3).

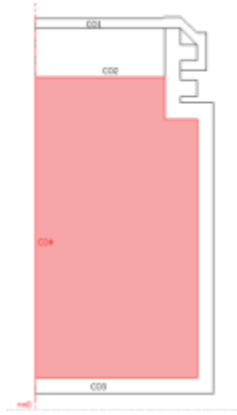


Figura 3. Representación del dominio bidimensional con simetría axial.

Esta simplificación del modelo asumiendo simetría axial si bien brinda una solución aproximada, permite reducir considerablemente el número de nodos de la malla, con la consecuente disminución del tiempo de cálculo involucrado y la memoria necesaria para el procesamiento (Martínez y Rosenberger, 2013).

Para la discretización del dominio, luego de haber analizado la convergencia de resultados con diferentes grados de densificación del mallado automático, se seleccionó una malla conteniendo 4784 elementos triangulares lagrangianos (Figura 4a) con 9792 grados de libertad y una calidad de elemento mínima de 0,69 (Figura 4b).



Figura 4. Discretización del dominio.

Propiedades físicas

En la definición de los parámetros físicos (densidad, conductividad térmica, calor específico) del subdominio correspondiente a la mermelada bajas calorías se utilizaron propiedades variables con la temperatura. Estas propiedades fueron calculadas a partir de la composición proximal del producto determinada experimentalmente (Tabla 1) y de las

correlaciones que se muestran en la Tabla 2, aplicables a alimentos en general para determinar las propiedades de los componentes mayoritarios (Choi y Okos (1986) en Ibarz y Barbosa-Cánovas, 2005).

A fin de incorporar al modelo numérico estas correlaciones que describen las propiedades físicas de la mermelada en función de la temperatura, se estas funciones como Expresiones de Subdominio.

En la definición de los parámetros físicos del resto de los materiales –vidrio del envase, la tapa de hojalata y el aire del espacio de cabeza- se utilizaron propiedades constantes de acuerdo a los datos presentados en la Tabla 3.

Tabla 1. Composición proximal de la mermelada de uva bajas calorías.

Componente	Fracción másica
Carbohidratos	0,4260
Proteínas	0,0009
Cenizas	0,0104
Agua	0,5626

Tabla 2. Correlaciones para el cálculo de propiedades de los componentes mayoritarios de los alimentos.

Propiedad	Componente	Ecuación
Densidad, ρ (kg/m ³)	Carbohidratos	$1,5991 \times 10^3 - 0,31046T$
	Proteínas	$1,3299 \times 10^3 - 0,5184T$
	Cenizas	$2,4238 \times 10^3 - 0,28063T$
	Agua	$997,18 + 3,1439 \times 10^{-3}T - 3,7574 \times 10^{-6}T^2$
Conductividad térmica, k (W/m°C)	Carbohidratos	$0,20141 + 1,3874 \times 10^{-3}T - 4,3312 \times 10^{-6}T^2$
	Proteínas	$0,17881 + 1,1958 \times 10^{-3}T - 2,7178 \times 10^{-6}T^2$
	Cenizas	$0,32962 + 1,4011 \times 10^{-3}T - 2,9069 \times 10^{-6}T^2$
	Agua	$0,57109 + 1,7625 \times 10^{-3}T - 6,7036 \times 10^{-6}T^2$
Calor específico, C_p (kJ/kg°C)	Carbohidratos	$1,5488 + 1,9625 \times 10^{-3}T - 5,9399 \times 10^{-6}T^2$
	Proteínas	$2,0082 + 1,2089 \times 10^{-3}T - 1,3129 \times 10^{-6}T^2$
	Cenizas	$1,0926 + 1,8896 \times 10^{-3}T - 3,6817 \times 10^{-6}T^2$
	Agua	$4,1762 - 9,0864 \times 10^{-5}T + 5,4731 \times 10^{-6}T^2$

Tabla 3. Propiedades de los materiales empleados en la definición del dominio del modelo de simulación.

Material	ρ , (kg/m ³)	k, (W/mK)	Cp, (J/kgK)	Fuente
Hojalata	7265	66,8	210	American Element (2016)
Vidrio	2243	1,125	963	Lespinard et al. (2012)
Aire	1,184	0,02551	1007	Çengel y Cimbala (2006)

Solver

El modelo no estacionario se resolvió mediante el Solver Direct UMFPACK, con un escalado temporal por método BDF, una tolerancia de 0.001 y un tamaño de paso de 300 s hasta un tiempo total de proceso de 7200 s, involucrando 83,5 s para obtener la solución en un equipo Intel Pentium Dual CPU T3400 2.17 GHz 64 bits.

4. Resultados y Discusión

En la Figura 5 se muestran las predicciones de la evolución temporal de la temperatura en todo el dominio durante 2 h de proceso, a intervalos de 15 minutos. Mientras que en la Figura 6 se representan las curvas de calentamiento experimental (puntos) y simulada a través del modelo (línea). Puede apreciarse claramente la inercia térmica inicial, típica de estos productos viscosos.

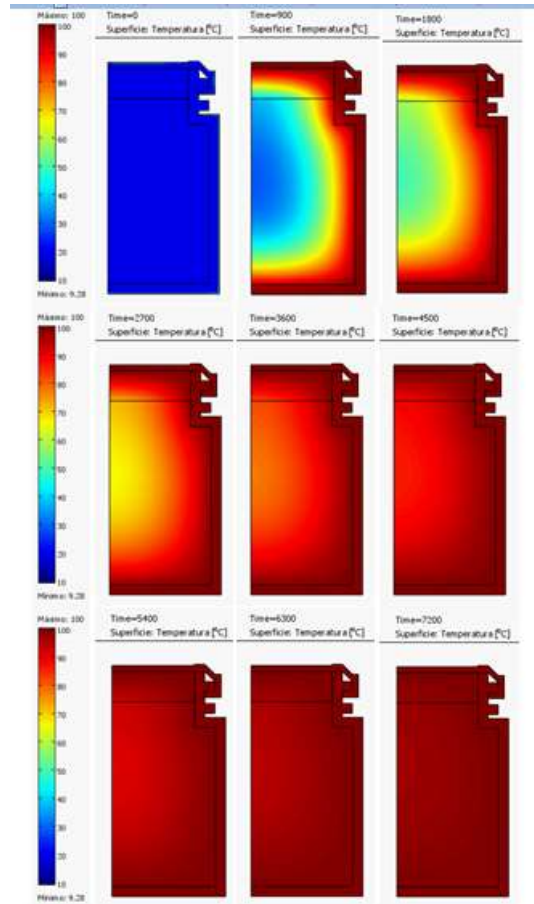


Figura 5. Evolución temporal de la temperatura en todo el dominio predicha por el modelo MEF.

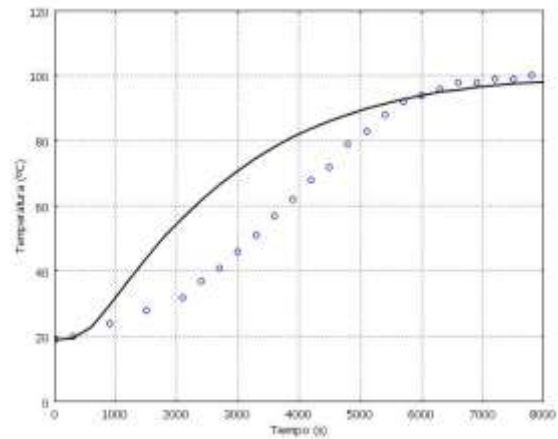


Figura 6. Curva de calentamiento experimental (puntos) y simulada (línea) por el modelo MEF

La concordancia entre las temperaturas simuladas y las observadas experimentalmente, en especial en la predicción de la temperatura de pasteurización prefijada como objetivo, comprueba la validez del modelo de simulación propuesto para este sistema.

5. Conclusiones

En este trabajo se ha desarrollado y validado un modelo numérico computacional para la predicción de la temperatura en el centro térmico del envase de mermelada de uva bajas calorías, herramienta fundamental para predecir, monitorear y diseñar el adecuado proceso de pasteurización que requiere este alimento para asegurar su inocuidad y correcta conservación.

6. Referencias

- AmericanElement. (2016). The Advanced Material Manufacturer®. Tin Plate, CAS# 7440-31-5, <https://www.americanelement.com/tin-plate-7440-31-5>. Accedido en: 14/09/2017.
- Araneda, M. (2015). *Hidratos de carbono (carbohidratos). Características y propiedades. Parte 1*. Edualimentaria.com, Educación en Alimentación y Nutrición. <http://www.edualimentaria.com/hidratos-de-carbono-caracteristicas-propiedades/parte1>. Accedido el 15/10/2017.
- Beuchat, L.R.; Rice, S.L. (1979). *Bysochlamys Spp. and their importance in processed fruits*. Advances in Food Research 25, 237-288.
- Bird, R.B., Stewart, W.Y., Lightfoot, E.N. (1976). Transport Phenomena. John Wiley and Sons, New York.
- C.A.A. (2010). *Código Alimentario Argentino*. Capítulo X – Alimentos Azucarados, Artículo 810, www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/Capitulo_X.pdf. Accedido en: 23/03/2016.
- Çengel, Y.A.; Cimbala, J.M. (2006). *Mecánica de fluidos: Fundamentos y aplicaciones*, 1ª edición, McGraw-Hill, SERBIULA (sistema Librum 2.0).
- Choi, Y.; Okos, M.R. (1986). *Effects of temperature and composition on the thermal properties of foods*. En: Food Engineering and Process Applications, Vol. 1, Transport Phenomenon (L. Maguer y P. Jelen), Elsevier, New York.
- Codex Alimentarius*. (2016). Organización Mundial de la Salud – Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), STAN 296-2009, pags. 1-10.
- Erdogdu, F.; Uyar, R.; Palazoglu, T.K. (2010). *Experimental comparison of natural convection and conduction heat transfer*. Journal of Food Process Engineering 33, 85–100.
- Eyégghé-Bickong, H.A.; Alexandersson, E.O.; Gouws, L.M.; Young, P.R.; Vivier, M.A. (2012). *Optimisation of an HPLC method for the simultaneous quantification of the major sugars and organic acids in grapevine berries*. Journal of Chromatography B, 885– 886, 43– 49.
- Ferreira, E.H.R.; Masson, L.M.P.; Rosenthal, A.; Souza, M.L.; Tashima, L.; Massaguer, P.R. (2011). *Thermoresistance of filamentous fungi isolated from aseptically packaged fruit nectars*. Braz. J. Food Technol. 14, 164–171.
- García-Martínez, E.; Ruiz-Díaz, G.; Martínez-Monzó, J.; Camacho, M.M.; Martínez-Navarrete, N.; Chiralt, A. (2012). *Jam manufacture with osmodehydrated fruit*. Food Research International 35, 301–306.
- García-Noguera, J.; Weller, C.L.; Oliveira, F.I.P.; Rodrigues, S.; Fernandes, F.A.N. (2010). *Dual-stage sugar substitution in strawberries with a Stevia-based sweetener*. Innovative Food Science and Emerging Technologies 11(1), 225–230.
- Ibarz, A.; Barbosa-Cánovas, G. V. (2005). *Operaciones Unitarias en la Ingeniería de Alimentos*. Editorial Aedos S.A., Grupo Mundi-Prensa, Madrid.
- Jiménez-Islas, H.; González-Calderón, L.M.; Botello-Álvarez, J.E.; Navarrete-Bolaños, J.L. (2005). *Estudio numérico de la esterilización térmica de alimentos líquidos enlatados que contienen partículas empleando el enfoque de medio poroso*. Revista Mexicana de Ingeniería Química 4(1), 1-23.
- Laborde, M.B.; Barreto, G.P.; Pagano, A.M. (2017). *Reducción de azúcares calóricos en uva mediante inmersión asistida por ultrasonido*. En: Ingeniería de los Alimentos (ISBN 978-987-45380-7-9), M.C. Penci et al. (Eds.), A.E. de León (compilador), 1ª Edición, Ministerio de Ciencia y Tecnología de la Provincia de Córdoba, Argentina.
- Lespinard, A.R.; Bambicha, R.R., Agnelli, M.E.; Mascheroni, R.H. (2009). *Modelado de la transferencia de calor y variación de índices de calidad en mermeladas durante el proceso de pasteurización*. Mecánica Computacional XXVIII, 3067-3077.
- Lespinard, A.R.; Bambicha, R.R., Mascheroni, R.H. (2012). *Quality parameters assessment in kiwi jam during pasteurization. Modelling and optimization of the thermal process*. Food and Bioproducts Processing 90, 799–808.

Martínez, A.M.; Rosenberger, M.R. (2013). *Modelado numérico de pasteurización artesanal de leche y jugos naturales*. *Mecánica Computacional* 32, 2485-2501.

Moraga, N.; Torres, A.; Guarda, A.; Galotto, M.J. (2011). Non-Newtonian canned liquid food, unsteady fluid mechanics and heat transfer prediction for pasteurization and sterilization. *Journal of Food Process Engineering* 34, 2000–2025.

Morelli, L.L.L.; Prado, M.A. (2012). *Extraction optimization for antioxidant phenolic compounds in red grape jam using ultrasound with a response surface methodology*. *Ultrasonics Sonochemistry* 19, 1144–1149.

Oliveira, F.I.P.; Rodrigues, S.; Fernandes, F.A.N. (2012). *Production of low calorie Malay apples by dual stage sugar substitution with Stevia-based sweetener*. *Food and Bioproducts Processing* 90(4), 713–718.

Resolución N° 1083. (2009). Estrategia Nacional para la Prevención y Control de Enfermedades no Transmisibles. Ministerio de Salud Pública de la Nación, Argentina. <https://www.argentina.gob.ar/salud>. Accedido en: 23/03/2016.

Silva, F.V.M. (2015). *Inactivation of Byssochlamys nivea ascospores in strawberry puree by high pressure, power ultrasound and thermal processing*. *International Journal of Food Microbiology* 214, 129–136.

Singh, A.; Singh, A.P.; Ramaswamy, H.S. (2015). *Computational techniques used in heat transfer studies on canned liquid-particulate mixtures – A review*. *Trends in Food Science & Technology* 43(1), 83-103.

Varma, M.N.; Kannan, A. (2006). *CFD studies on natural convective heating of canned food in conical and cylindrical containers*. *Journal of Food Engineering* 77, 1024–1036

10TCA. Obtención de fibra alimentaria a partir de cascarilla de soja

Extraction of dietary fiber from soybean husk

Yesica Jaimes¹, Graciela Pergassere³, M. Eugenia Rodriguez³, Patricia Montoya^{1,2}; Florencia Grasso^{1,2}

¹Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba, jaimes_79@hotmail.com, ²Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, U.N.C., ³Facultad de Ciencias Agropecuarias, U.N.C.

Resumen

Tres tratamientos deslignificantes seguidos de un blanqueo fueron llevados a cabo utilizando cascarilla de soja como material de partida para la obtención de fibra alimentaria. Se analizó la composición, distribución de tamaño y comportamiento en la molienda del sustrato empleado para tales fines. Los agentes deslignificantes utilizados fueron H₂SO₄, NaOH y H₂O₂ con una concentración de 5 y 10 % (p/v) para el primero, 2% (p/v) para el segundo, 10 y 20 volúmenes para el tercero. Las temperaturas fueron de 100 y 120°C para cada concentración. Para el blanqueamiento se usó HClO al 1,7% (v/v), el cual se preparó a partir de una solución de hipoclorito de sodio 11% (p/v) de uso industrial. Luego de cada tratamiento se midió rendimiento, azúcares reductores y fenoles totales para evaluar cual de las 10 combinaciones planteadas (4 ácidos, 2 básicos, 4 oxidantes, todos por duplicado) llegaban a los resultados deseados. Otro factor a tener en cuenta fue el color que se obtuvo del blanqueo. La fibra producida con el tratamiento básico al 2% (p/v) y 100°C permitió alcanzar valores satisfactorios de rendimiento, 43,26%, azúcares reductores, 2,86% y fenoles totales, 331,73 MEA.

Palabras claves: cascarilla, soja, deslignificación, blanqueamiento.

Abstract

Three delignifying treatments followed by bleaching were carried out using soybean husk as starting material for extraction dietary fiber. The composition, size distribution and behavior in the grinding of the substrate used for studies were analyzed. The delignifying agents used were H₂SO₄, NaOH and H₂O₂ with a concentration of 5 and 10% (w / v) for the first, 2% (w / v) for the second, 10 and 20 volumes for the third. The temperatures were 100 and 120 ° C for each concentration. For bleaching, 1.7% (v / v) HClO was used, which was prepared from 11% (w / v) sodium hypochlorite solution for industrial use. After each treatment, performance, reducing sugars and total phenols were measured to evaluate which of the 10 combinations proposed reached the desired results. Another factor to take into account was the color obtained from the bleaching. The fiber produced with the basic treatment at 2% (w / v) and 100 ° C allowed to reach satisfactory yield values, 43.26%, reducing sugars, 2.86% and total phenols, 331.73 MEA.

Keywords: husk, soybean, delignification, bleaching.

1. Introducción

Nuestro país es uno de los principales productores de soja, junto con China, Brasil y EEUU. El 84% de la producción de soja de Argentina se exporta como grano, harina, aceite y biodiesel (Calzada y DiYenno, 2016). La producción de aceite de soja de pequeñas y medianas empresas, ubicadas en la provincia de Córdoba, utiliza el método de extrusión/prensado para su obtención. La cascarilla de soja se obtiene durante el pretratamiento que sufre el grano; este pretratamiento tiene el objetivo de aumentar la proporción de otros componentes, como proteínas. (Cordone *et al.*, 2011)

Para la provincia de Córdoba, la molienda de soja alcanzó aproximadamente las 2 millones de T durante el 2016; este volumen de molienda generaría 130.000 Tn de cascarilla por año, considerando que la misma representa un 6,5 % en promedio del grano procesado (Calzada y DiYenno, 2016).

La cascarilla de soja tiene una elevada concentración de carbohidratos (alrededor de un 75%), con un 40% de fracción fibrosa. La mayor parte corresponden a componentes de la pared celular, entre los que se encuentra un contenido apreciable (8%) de pectinas. El contenido en lignina ácido detergente (LAD) representa sólo un 1,8% y una parte (36%) corresponde a cutina. Contiene un 2% de azúcares solubles (sacarosa) y un 5% de azúcares insolubles (rafinosa, estaquiosa y verbascosa).

En la actualidad la cascarilla de soja puede comercializarse en forma separada o añadirse a la harina 47-48% PB (proteína bruta) para obtener harina 44% PB. Esta última práctica es puramente comercial, al no disponerse de cauces adecuados para la venta de la cascarilla a precios de interés.

Al poseer un porcentaje importante de carbohidratos podría utilizarse como fuente de fibra, aportando valor agregado a este subproducto que solo se utiliza como complemento de alimentación animal.

El objetivo del presente trabajo es la obtención de fibra alimentaria a partir de cascarilla de soja, mediante los métodos convencionales de hidrólisis ácida, hidrólisis básica y tratamiento oxidante.

2. Materiales y Métodos

La materia prima utilizada fue cascarilla de origen industrial proveniente de una aceitera de la provincia de Córdoba.

Todos los reactivos utilizados fueron de grado analítico provistos por Sigma-Merck. Las determinaciones se llevaron a cabo en el Instituto de Ciencia y Tecnología de los alimentarios (I.C.T.A).

1.1 Caracterización de la cascarilla

Se determinó cenizas siguiendo la Norma TAPPI (T 211-om-02-99). El contenido de humedad se midió con norma TAPPI (T 258 om-89). Las proteínas se cuantificaron por el método de Kjeldhal (AOAC 923.03) y la materia grasa por extracción en Soxhlet (AOAC 920.39). Para la determinación de lignina total, soluble más insoluble, el material de partida se acondicionó según Norma TAPPI (T 222 om-88). Por último se obtuvo el porcentaje de carbohidratos por diferencia de las anteriores determinaciones.

1.2 Acondicionamiento de la cascarilla

Se sometió la cascarilla a molienda para verificar su desempeño frente a la reducción de tamaño. Se molieron muestras con diferentes contenidos de humedad: 5, 10 y 15 de humedad. El contenido de humedad final se alcanzó por sprayado con agua a temperatura ambiente y equilibrio en bolsas selladas durante 12 horas. El equipo utilizado fue un molino de martillos (Fritsch modelo Pulverisette 16) con una criba de 0,5 mm. Para complementar el estudio, se realizó la molienda del material sin humectar.

Posteriormente a la molienda, se realizó un tamizado con una combinación de mallas durante 5 minutos. Los tamices ASTM utilizados fueron: 6, 8, 12, 16, 20, 30, 40, en Tamiz vibratorio (Zonytest).

1.3 Tratamiento quimicotermodinámico

Se planteó utilizar tres agentes deslignificantes: ácido sulfúrico, hidróxido de sodio y peróxido de hidrogeno. Cada uno se introdujo junto con el material de partida (5 gramos de muestra en 100 mL) en un erlenmeyer de 250 mL. La cascarilla de soja utilizada fue sólo molida, sin desengrasar ni secar. El proceso se realizó con agitación constante durante 1 hora en un baño termostático, con glicerina como fluido de intercambio calórico. La temperatura y la concentración de cada uno de los agentes son especificadas en el diseño de la Tabla 1.

Tabla 1. Condiciones de los tratamientos químicos planteados

Acido	T(°C)	C(%p/v)	Alcali no	T(°C)	C(%p/v)	Oxidante	T(°C)	C(vol)
H1	100	5	A1	100	5	O1	100	10
H2	120	5	A2	120	5	O2	120	10
H3	100	10	A3	100	10	O3	100	20
H4	120	10	A4	120	10	O4	120	20

Debido a inconvenientes durante el proceso los tratamientos A3 y A4 fueron descartados, mientras que en A1 y A2 se modificó la concentración, siendo la elegida 2%(p/v). Todas las combinaciones planteadas se llevaron a cabo por duplicado. Luego de cada tratamiento, el sólido obtenido se filtró bajo vacío y lavó repetidamente con agua destilada durante 1 hora. El líquido filtrado se recuperó para

cuantificar mediante espectrofotometría (método Folin y Ciocalteu, 1927) los fenoles asociados a la ruptura de lignina además de la medición de azúcares reductores mediante método de Lane-Eynon. (Morales de la Rosa, 2015; Reales, Castaño Hader *et al.*, 2016).

1.4 Blanqueo

El sólido lavado se sometió a un blanqueo con hipoclorito de sodio al 1,7% v/v durante dos horas en un baño termostático a 40°C. Esta dilución se preparó a partir de una solución de hipoclorito de sodio de grado industrial con una concentración de 11 % p/v.

Posteriormente, la fibra blanqueada se filtró bajo vacío y lavó repetidamente con agua destilada hasta que el líquido del filtrado alcanzó pH neutro, luego fue secada a 60°C por 24 horas. (Pinedo Burgos, Navarrete, 2017; Cayo Alvarez, Matos Chamorro, 2009).

3. Resultados y Discusión

De la cascarilla de soja utilizada el contenido de lignina soluble que se obtuvo fue de $0,73 \pm 0,02\%$ mientras que el de lignina insoluble fue de $35,36 \pm 6,62\%$; lignina total= $36,09\%$ y porcentaje de hidratos de carbono: $52,79\%$ (por diferencia). Estos valores no concuerdan con los previamente expresados posiblemente debido a las diferentes técnicas para su determinación.

La Tabla 2 muestra la composición proximal del material en estudio. Todos ellos concuerdan con los encontrados en bibliografía (Olguin *et al.*, 2009), excepto porcentaje de proteína, mostrando un valor inferior al esperado. Esto podría deberse a las características del procedimiento analítico que presenta resultados erráticos a valores muy bajos de nitrógeno proteico.

Tabla 2. Comparación de composición proximal

Componente	(%) Bibliografía	(%)
Proteína	$7,80 \pm 0,52$	$1,84 \pm 0,17\%$
Materia Grasa	$5,31 \pm 0,41$	$1,62 \pm 0,32\%$
Cenizas	$4,12 \pm 0,30$	$3,72 \pm 0,085\%$
Humedad	$3,50 \pm 0,23$	$3,94 \pm 0,19\%$

La molienda del material de partida sin humectar presentó el mejor comportamiento, con respecto a porcentaje de pérdida, reblandecimiento del material y temperatura generada durante la operación. En

cuanto a la distribución de tamaño la malla 12 presentó el mayor porcentaje de retención con un valor de 31,41%, un equivalente en micrones de 1680 de diámetro de partícula.

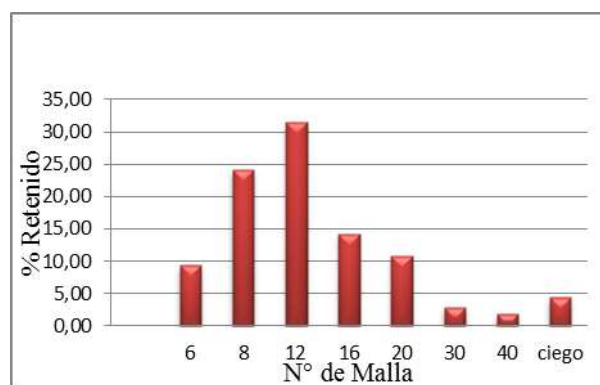


Figura 1. Distribución de tamaño

3.1. Resultados de los tratamiento deslignificantes

La Tabla 3 muestra los valores de rendimiento, azúcares reductores y fenoles totales tomados como parámetro de eficiencia de cada tratamiento. Teniendo en cuenta el rendimiento de H1 (menor concentración de ácido utilizado y 100°C) fue el de mejor resultado; sin embargo, a pesar de dar buena eliminación de lignina, en función de los fenoles cuantificados en el filtrado, se aprecian altos niveles de azúcares reductores. Esto podría indicar que el ataque ácido también afecta a la matriz celulósica liberando azúcares reductores. Este último fenómeno se repitió para todas las combinaciones de tratamiento ácido. En base a esto quedó descartado el procedimiento ácido.

Con respecto a los otros ensayos, los niveles de hidrólisis de la matriz tratada fueron similares, pero tanto los rendimientos como la degradación de la lignina fueron inferiores en el caso del tratamiento oxidante. El tratamiento que mejores resultados mostró fue A1 (2%(p/v)-100°C) tanto en rendimiento como en azúcares reductores; si bien se liberaron menos fenoles que en A2 se debe considerar la peligrosidad de trabajar con una base fuerte a elevadas temperaturas (superior a 100°C). Este planteo de seguridad se debe atender también para el tratamiento oxidante, debido a las presiones generadas al trabajarse con sistema cerrado.

Tabla 3. Parámetros de tratamiento

Muestra	Rendimiento ¹	AR ²	Fenoles
---------	--------------------------	-----------------	---------

¹

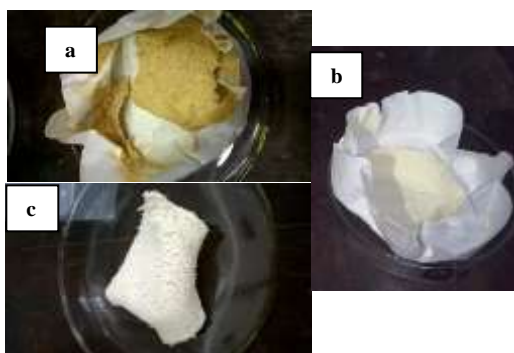
			Totales ³
H1	50,54	22,78	256,32
H2	42,36	24,10	210,70
H3	44,25	20,71	188,71
H4	39,78	21,84	220,36
A1	43,26	2,86	331,73
A2	37,75	3,08	395,90
O1	38,94	-	178,71
O2	40,72	-	211,45
O3	39,21	2,50	121,79
O4	39,75	2,59	148,23

¹ Rendimiento en porcentaje

² Azúcares reductores en porcentaje

³ Fenoles expresados como mg de ácido gálico por 100 g de muestra

En la Figura 2 se puede observar que el blanqueo para tratamiento ácido no resultó eficaz teniendo en cuenta que la fibra presentó un color amarillento. La fibra A1 alcanzó el grado de blanqueo requerido para fines alimentarios. La fibra O2 presentó valores de rendimiento, azúcares reductores (ausencia) y fenoles totales más satisfactorios que el resto de las combinaciones para tratamiento oxidante, aunque el grado de blanqueo obtenido fue menor que la fibra A1. Para mayores concentraciones peróxido (20 Vol.) se obtuvieron mejores resultados en cuanto al color pero se obtuvieron menor rendimiento y menor cantidad de fenoles liberados.



La Figura muestra cuatro fotografías tomadas con microscopio confocal de 17055x, lente 100x y cada 0,01 micras (Olimpus-LEXT OLS4000). Como puede observarse, todas las fibras obtenidas exhiben un patrón longitudinal similar al de la fibra comercial.

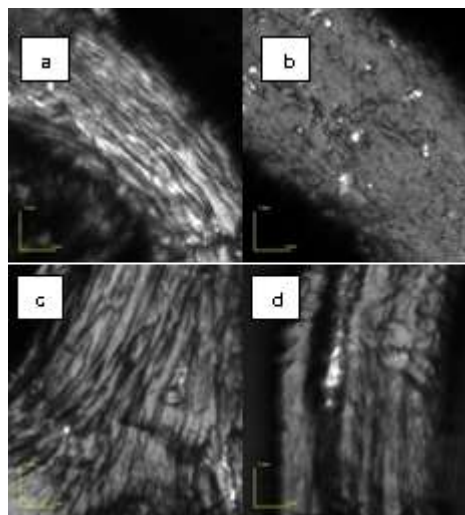


Figura 3. a) Fibra con tratamiento A1; b) Fibra comercial de trigo; c) Fibra con tratamiento H1; d) Fibra con tratamiento O2.

4. Conclusiones

La composición de la cascarilla de soja analizada confirmó que es posible su utilización como material de partida para obtención de fibra.

Para el acondicionamiento del material a tratar la molienda debe realizarse a un contenido de humedad de 5%, que coincide con la humedad promedio de la cascarilla industrial.

Se consideró como mejor método para la obtención de fibra partiendo de la cascarilla de soja, al tratamiento con NaOH al 2% (p/v) y 100 °C, ya que se obtuvieron altos rendimientos, bajos azúcares reductores y elevado contenido de fenoles en el residuo líquido.

La utilización de una base fuerte como NaOH a elevadas temperaturas presenta el desafío de contar con un equipo a nivel industrial que soporte la

Figura 2. a) Fibra H1 seca blanqueada; b) Fibra A1 seca blanqueada; c) Fibra O2 seca blanqueada.

agresividad de esta sustancia.

El estudio debe completarse con mediciones de color y propiedades funcionales de la fibra obtenida.

Tanto a escala piloto como a escala industrial es necesario plantear un sistema para la recuperación de efluentes producidos.

5. Bibliografía

Calzada J., DiYenno F., “En la campaña 2015/2016 Argentina se posiciona como líder en el mercado mundial de granos y subproductos” A&G 105. Tomo XXVI vol. 4: 486-488 (2016).

Cayo Alvarez E., Matos Chamorro A., “Obtención de Fibra Insoluble a Partir de Cáscaras de Naranja”, Revista de Investigación Universitaria Vol 1, Perú, (2009).

Cordone J., Vidal C., Albrecht R., Matinez F., “Rendimiento industrial de soja en la provincia de Santa Fe, Argentina” (2011). *Disponible en* Http://www.acsoja.org.ar/images/cms/contenidos/320_b.pdf

Morales de la Rosa S. “Hidrólisis ácida de celulosa y biomasa lignocelulósica asistida con líquidos iónicos”, Madrid, España, (2015).

Official methods of analysis of AOAC International. 2010. Current though revisión 3.

Olguin B. M. C., Posadas R. M. D., Revelant Z. G. C., Labourdette P. V., Marinozzi T. D., Elías M. H. D., Gayol F. M. C., Zingale V. M. I., “LA CASCARILLA DE LA SOJA: POTENCIAL COMPONENTE DE ALIMENTOS FUNCIONALES”, Rev Chil Nutr Vol. 36, N°3, (2009)

Pinedo Burgos A. M., Navarrette Rivadeneira J. J. “Obtención de celulosa micro cristalina a partir de la fibra de estopa de coco”, Universidad de Guayaquil, Ecuador, (2017).

Reales J. G., Castaño Hader I. y Zapata José E., “Evaluación de Tres Métodos de Pretratamiento Químico sobre la Deslignificación de Tallos de Yuca”, Colombia, (2016).

11TCA. Evaluación de la composición mineral en variedades de aceitunas verdes naturales y elaboradas en el Valle Central. Catamarca

Evaluation of the mineral composition in natural and processed green olives varieties in the Central Valley. Catamarca

María Teresa Pozzi¹, Ana Julia Filippín^{1,2}, Eduardo Jorge Marchevsky.

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. UNCa. Av. Belgrano 300 2. Facultad de Química Bioquímica y Farmacia. UNSL. Chacabuco 917. mariatpozzi@gmail.com.

Resumen

Actualmente los consumidores presentan una preferencia concreta a la hora de adquirir productos agroalimentarios, seleccionando aquellos cuyo origen, tipo, calidad y composición se conoce, y para ello es necesario determinar tanto componentes mayoritarios como minoritarios. Para este propósito las técnicas analíticas más adecuadas son las de espectrometría de emisión atómica con fuente de plasma. Teniendo en cuenta dichas consideraciones el objetivo del trabajo es determinar por espectrometría de emisión atómica por atomización con plasma (ICP-OES), los elementos Na, K, Ca, Fe, Mg, Cu, Zn, S y P en variedades de olivas verdes, tanto naturales como elaboradas, con el propósito de evaluar si los procesos de manufactura modifican las concentraciones de los elementos cuantificados.

Se tomaron 30 muestras al azar de olivas verdes de diferentes fincas del Valle Central de Catamarca, distribuidas 10 de Manzanilla; 10 de Arbequina, 10 de Arauco y se analizaron por triplicado. Para contrastar diferencias entre las variedades, considerado como variable independiente concentración se aplicó análisis de varianza y prueba de medias de Duncan con InfoStat versión- 2017 d.

Los resultados demuestran que los procesos de elaboración modifican la composición de los minerales y las concentraciones no presentan diferencias entre las variables, si hay diferencias entre concentraciones.

Palabras claves: Aceitunas, composición mineral, procesos

Abstract

Currently consumers have a specific preference when purchasing agri-food products, selecting those whose origin, type, quality and composition is known, and for this it is necessary to determine both majority and minority components. For this purpose the most appropriate analytical techniques are those of atomic emission spectrometry with plasma source. Taking into account these considerations, the objective of the work is to determine by atom atomization emission spectrometry with plasma (ICP-OES), the elements Na, K, Ca, Fe, Mg, Cu, Zn, S and P in green olives, both natural and processed, with the purpose of evaluating if the manufacturing processes modify the concentrations of the quantified elements.

Thirty samples were taken at random from green olives from different farms of the Central Valley of Catamarca, distributed 10 from Manzanilla; 10 from Arbequina, 10 from Arauco and analyzed in triplicate. To contrast differences between the varieties, considered as an independent variable concentration, variance analysis and Duncan's means test were applied with InfoStat version-2017

The results show that the processing processes modify the composition of the minerals and the concentrations do not show differences between the variables, if there are differences between concentrations.

Keywords: Olives, mineral composition, processes

1. Introducción

Las actividades agroindustriales con mayor desarrollo en la provincia de Catamarca es la olivícola y oleícola, por lo que los productores vieron la necesidad de modificar sus prácticas agrícolas con la finalidad de lograr un producto que responda a los requerimientos internacionales. El desarrollo de la nueva producción olivícola significó notables diferencias respecto a la tradicional, las prácticas culturales aplicadas fueron innovadoras en lo que respecta a la preparación del suelo, el aumento de la densidad de plantación, la propagación en vivero, poda y cosecha mecánica y fertirrigación (Caeiro; R.E.; 2012). Estas nuevas concepciones se extienden a las exigencias de los consumidores, quienes presentan una preferencia concreta por los productos agroalimentarios teniendo en cuenta su origen, tipo y calidad del mismo (Burlo, F *et al* 2003). Atendiendo a la demanda actual las asociaciones productivas de Catamarca, como la Asociación Olivícola de Catamarca (Asolcat), la Cámara de Empresas Agropecuarias Promovidas de Catamarca y el Grupo CREA Arauco están orientadas fundamentalmente al intercambio de información técnica, tratamiento y definiciones de problemas legales, técnicos y administrativos (Cáceres *et al.*; 2009) con el propósito de mejorar la calidad del producto final (características organolépticas, parámetros físico-químicos, origen, etc.) de manera que este se incorpore y compita en el mercado internacional, y con aquellas empresas que regulan su actividad bajo normas de calidad. Para llevar a cabo dicho propósito la composición del producto debe reflejar todos los componentes que lo forman, y conforme al porcentaje presente se clasifican en constituyentes principales, secundarios, a nivel traza y ultratrazas. La determinación de componentes traza y ultratrazas permiten verificar ciertas cualidades de calidad o ecotipos que permiten aseverar la pertenencia de la variedad del producto a una determinada región, posibles alteraciones provenientes del proceso de elaboración, presencia de contaminantes provenientes de prácticas agrícolas poco sustentables, etc. Con este nuevo enfoque el análisis de muestras alimentarias toma relevancia ya que no siempre los datos de la composición de un alimento son adecuados y dentro de los componentes que requieren ser revisados para completar la información es la determinación de minerales y elementos traza; ya que son imprescindibles para muchas funciones metabólicas del cuerpo humano cuya deficiencia puede ocasionar daños irreversibles en la salud. Reinhold, J.G., (1988). Esta información resulta crítica para científicos cuyas investigaciones están orientadas a epidemiología, estado nutricional de individuos y poblaciones con ciertos patrones de salud, considerando a la dieta relevante para evitar ciertas enfermedades, con lo cual los alimentos adquieren un nuevo concepto de alimentos

funcionales Schmidl, M.K., *et al* (2000), referido a la función que cumplen sus componentes activos.

No se debe perder de vista que algunos elementos comunes pueden resultar tóxicos si se considera sus niveles de concentración, lo cual se encuentra regulado para un gran número de alimentos. Actualmente las normas internacionales y nacionales referidas a la calidad de los productos alimentarios, frescos o elaborados, establecen requisitos que exigen conocer con mayor precisión, exactitud y en forma simultánea la concentración de los compuestos contenidos en dichos alimentos. Para lograr este propósito, muchas investigaciones están orientadas hacia el desarrollo de técnicas analíticas multielementales, dentro de las cuales se destacan las espectrometrías de emisión atómica con fuentes de plasma, debido a que tienen ciertas ventajas sobre las técnicas electrotérmicas y de llama.

Esta técnica de análisis - la espectrometría de emisión atómica por plasma acoplado inductivamente (ICP-OES)- presenta las ventajas de permitir la determinación precisa de casi todos los elementos de la tabla periódica, con análisis simultáneo secuencial, con límites de detección que permiten determinar elementos refractarios (hasta 1000 veces más bajos que con espectrometría de absorción atómica con llama); con pequeñas interferencias no espectrales, y con un amplio rango lineal. Y como desventajas se puede mencionar que los equipos son costosos, y tienen un ruido alto de fondo e interferencias generadas por las bandas de grupos hidroxilo. (Marcano, E., *et al* (2010).

Las principales variedades cultivadas en la provincia de Catamarca son Arauco, Arbequina, Manzanilla, Picual, y Frantoio. (Matías *et al.*, 2012), en el presente trabajo se consideran para su estudio las variedades Manzanilla, Arbequina (de doble propósito) y Arauco (conserva) ya que son las más cultivadas y elaboradas en emprendimientos ubicados en Valle Central, el cual abarca los departamentos, Capital, Ambato, Fray Mamerto Esquiú, Paclín, Valle Viejo y Capayán. Bajo el supuesto de que la concentración de los elementos de las aceitunas elaboradas difiere de las olivas verdes naturales los resultados se sometieron a análisis estadístico, prueba de medias de Duncan con software InfoStat versión 2017p.

2. Objetivos

Objetivo General:

- Evaluar el contenido de minerales en variedades de aceitunas verdes naturales y aceitunas verdes elaboradas en el Valle Central de la provincia de Catamarca.

Objetivos Específicos:

- Determinar la concentración de minerales (Na, K, Ca, Fe, Mg, Cu, Zn, S, P) en tres variedades de aceitunas verdes naturales mediante la técnica de análisis espectrometría de emisión atómica caracterizada por inducción por plasma

3. Materiales y métodos

Toma de muestra: Se tomaron 30 muestras al azar de aceitunas verdes (10 muestras de variedad manzanilla; 10 de Arbequina y 10 muestras de Arauco) cosechadas en su punto óptimo de maduración y de diferentes emprendimientos olivícolas de la provincia de Catamarca ubicados en el Valle Central (abarca los departamentos Capital, Valle Viejo, Pomán, Capayán, Fray Mamerto Esquiú y Paclín) y se tomaron 30 muestras al azar de aceitunas en conserva de producción de las mismas fincas, distribuidas con el mismo número y variedad que las naturales.

Tratamiento de las muestras: Las muestras descarozadas y bien lavadas con agua desionizada se secaron a 102-105°C en estufa durante 48-72 hs y se calcinan durante 1 h. en mufla (650°C). Sobre 5 gr de muestra calcinada, se agregan 15 ml de HCl©, 10 ml HNO₃ © y 5 ml de HClO₄. Se evapora (casi seco) y se deja enfriar a temperatura ambiente; luego se adicionan 11,25 ml de HCl; 3,75 ml de HNO₃ y 5ml de una solución 500 ppm de indio, utilizado como estándar interno, y se lleva a 50 ml.

Para las mediciones se utilizó una Balanza: KRETZ, N° 34000236; Modelo: 5530; Cód. Aprob.: BE 80-888; Calibrada por CEMEC, Certif. N° 13997/09 un espectrómetro de acoplamiento inductivo. VARIAN PRO; Serie EL05083717-radial con frecuencia de calibración trimestral. Las longitudes de ondas y la sensibilidad de cada elemento analizado se muestran en la tabla I.

El registro final del sistema de lectura –PC, convierte intensidades en unidades de concentración (ppm)

$$C = m(IR) + b \quad (1)$$

C: concentración

IR: intensidad relativa

m : pendiente

b: punto de intercepción

Tabla I: Se presenta las longitudes de ondas de cada elemento y la sensibilidad del instrumento radial

Elemento	Longitud Onda (nm)	Sensibilidad
Na	589,59	1,5
K	766,491	4
Ca	396,847	0,3
Ca	317,933	6,5
Fe	238,204	0,9

Mg	279,55	0,1
Mg	279,8	10
Cu	327,395	1,5
Zn	213,86	0,8
S	181,972	13
P	177,43	25

Para el análisis estadístico se considera un diseño de bloque completamente aleatorizado, tomando como variable dependiente la concentración y se usó prueba de medias de Duncan. Se utilizó un software InfoStat -versión 2017p.

4. Resultados y Discusión

La concentración de los elementos analizados se expresa en mg/Kg de cenizas (ppm) y los valores promedios y el error muestral se presentan en la tabla II. Los resultados muestran que para todos los elementos los valores de concentraciones, para las tres variedades de oliva, presentan diferencias importantes después de ser procesadas para su envasado.

Se obtuvo que la concentración de Na es significativamente alta en las aceitunas elaboradas, lo cual tiene relación directa con el tratamiento con lejía y con la etapa de fermentación en salmuera, a que son sometidos los frutos para su envasado.

Los valores del K contenidos en las aceitunas verdes naturales son altos, y a pesar de que disminuye en forma notable en las aceitunas tratadas, sigue siendo elevado. Puede inferirse que la pérdida de K ocurre en las etapas de lavados; que dependiendo del establecimiento, se realizan en número y en tiempo diferentes. Un número elevado de lavados reduce los sustratos presentes en el fruto natural, lo cual se puede ver claramente que, a excepción del sodio, todos los elementos presentan menor concentración en los frutos tratados, que en su estado natural. Algunos establecimientos reemplazan el primer lavado por una neutralización con HCl grado alimentario (González *et al*; 1984), lo cual contribuye a evitar la pérdida de sustratos más solubles.

En general el contenido de minerales en aceitunas verdes sin proceso resulta interesante, las concentraciones del Zn, el Fe y el Cu, es superior al contenido de los mismos en otros vegetales, así también el Ca y el Mg se encuentran en cantidades importantes como aporte de estos para la ingesta diaria.

Tabla II: concentraciones medias (ppm) de los elementos determinados en variedades de oliva (Manzanilla, Arbequina y Arauco) naturales y elaboradas

VARIEDADES	MANZANILLA		ARBEQUINA		ARAUCO	
	Naturales	Elaboradas	Naturales	Elaboradas	Naturales	Elaboradas
Elementos	Medias ± E	Medias ± E	Medias ± E	Medias ± E	Medias ± E	Medias ± E
ppm						
Na	16,04 ± 0,15	957,10 ± 8,86	4,65 ± 0,003	872,39 ± 0,18	7,45 ± 0,09	763,10 ± 8,80
K	224,22 ± 1,28	28,67 ± 0,16	163,46 ± 1,10	20,85 ± 0,14	240,11 ± 1,88	3138 ± 0,25
Ca	63,37 ± 0,44	57,52 ± 0,40	62,88 ± 0,24	58,30 ± 0,23	58,69 ± 1,13	53,76 ± 1,04
Fe	132 ± 0,02	102 ± 0,02	4,32 ± 0,01	3,44 ± 0,08	2,35 ± 0,004	182 ± 0,003
Mg	43,59 ± 0,25	16,28 ± 0,09	53,06 ± 0,88	2128 ± 0,35	37,23 ± 0,50	14,60 ± 0,20
Cu	0,62 ± 0,01	0,56 ± 0,01	0,30 ± 0,01	0,27 ± 0,01	0,56 ± 0,26	0,51 ± 0,23
Zn	0,69 ± 0,02	0,49 ± 0,01	0,35 ± 0,01	0,23 ± 0,004	0,73 ± 0,02	0,50 ± 0,01
S	26,35 ± 0,30	17,16 ± 0,20	3144 ± 1,17	20,36 ± 0,76	27,68 ± 0,44	18,29 ± 0,29
P	69,04 ± 0,32	30,57 ± 0,14	57,61 ± 0,68	27,51 ± 0,32	52,21 ± 0,60	25,21 ± 0,29

Los valores de todos los elementos analizados en las aceitunas elaboradas, a excepción del Na, que aumenta, muestran una disminución importante. La pérdida de minerales de los frutos naturales luego de ser sometidos a los tratamientos para su elaboración se presentan en el gráfico N° 1

Analizando las pérdidas de cada elemento se observa que los valores de porcentajes para cada variedad de aceituna (Manzanilla, Arbequina y Arauco) se diferencian muy poco.

Para el K, Mg y P la pérdida es importante con porcentajes de 87 %, 62 % y 56 % respectivamente. El Ca y el Cu los porcentajes de merma son bajos entre 7 y 10 %. El Zn y el S pierden alrededor de un 30 % luego de ser elaboradas. Por último el Fe pierde aproximadamente un 20 %.

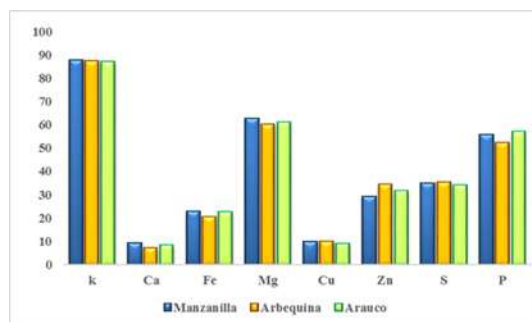


Gráfico N° 1: Porcentajes de pérdida en el contenido de minerales en aceitunas procesadas

La etapa que más puede influir en la alteración de la composición de las aceitunas naturales al ser elaboradas es el tratamiento con soda caustica ya que el tiempo de contacto es variable, depende de muchos factores y a veces se requiere que la soda penetre en la pulpa hasta el hueso, lo cual si no se controla adecuadamente puede generar alteraciones en el proceso. Otro factor a tener en cuenta y que puede modificar la concentración de minerales en las aceitunas elaboradas es la variación de pH en la etapa de fermentación ya que en la primera etapa el pH es alcalino (pH: 10) y en la etapa final el pH es netamente ácido (pH<4), además en forma conjunta

la concentración salina se debe controlar en forma rigurosa para evitar la generación de bacterias indeseables capaz de alterar el producto (Arancibia Araya, V (2006)

Para el análisis de varianza los datos se dividieron en elementos mayoritarios y elementos minoritarios respecto las variedades de aceitunas consideradas – MN: Manzanilla Natural; ME: Manzanilla Elaborada; ArN: Arbequina Natural; ArE: Arbequina Elaborada y AN: Arauco Natural; AE: Arauco Elaborada.

Del análisis de los elementos mayoritarios (Na, K, Ca, Mg, S, P) respecto a las variedades de aceitunas no presentan diferencias significativas para p<0,05, lo cual se muestra en el gráfico N°: 2, mientras que en el gráfico N° 3 se observa que entre las concentraciones hay diferencias por lo menos en un elemento.

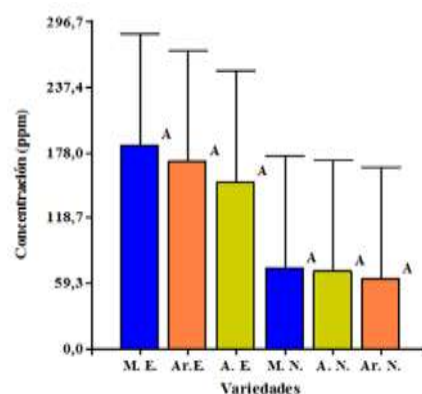


Gráfico N° 2: Las concentraciones de elementos mayoritarios no presentan diferencias significativas respecto a las variedades de aceitunas tanto naturales como elaboradas (medias con letra común no son significativamente diferentes p < 0,05

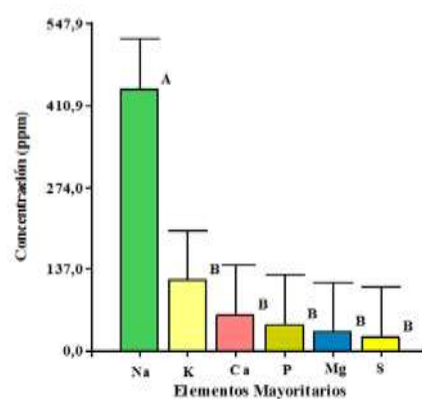


Gráfico N° 3: Las concentraciones de los elementos mayoritarios presentan diferencias significativas por lo menos en una concentración (medias con letra común no son significativamente diferentes p > 0,05

Considerando que las letras son iguales no hay diferencias significativas en la concentración de minerales mayoritarios respecto cada variedad,

siendo que el análisis da un p-valor: 0,8228. La correlación entre las concentraciones es muy baja siendo $R^2 = 0,45$ y $R_{aj} = 0,22$. La diferencia de letra para la variable concentración teniendo en cuenta cada elemento se justifica ya que el $p < 0,05$ ($p: 0,0139$).

Se analizaron las varianzas para cada variedad tanto de frutos naturales como elaborados de los elementos minoritarios (Fe, Cu, Zn), tomando como variable dependiente la concentración y se observa en los gráficos N°: 4 y gráfico N° 5 el mismo comportamiento no se observan diferencias significativas entre las variedades, pero si hay diferencia entre los elementos

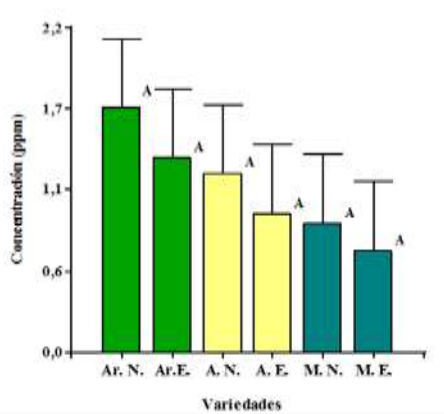


Gráfico N° 4: Las concentraciones de elementos minoritarios no presentan diferencias significativas respecto las variedades de aceitunas tanto naturales como elaboradas (medias con letra común no son significativamente diferentes $p > 0,05$)

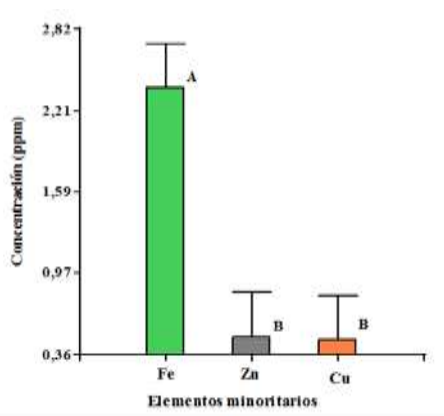


Gráfico N° 5: Las concentraciones de los elementos minoritarios presentan diferencias significativas por lo menos en una concentración (medias con letra común no son significativamente diferentes $p > 0,05$)

5. Conclusiones

Se puede concluir que el aumento del contenido de sodio en las aceitunas elaboradas es una alerta para quién las consume, ya que resulta un elemento clave para deportistas y personas con gran actividad física, pero es contraproducente en personas hipertensas.

El potasio, a pesar de la importante pérdida que sufre en los tratamientos de elaboración conjuntamente con el calcio y el magnesio están presentes en la pulpa de la aceituna elaborada en cantidades importantes para la dieta. La disminución en el contenido de potasio es un aspecto negativo ya que es un elemento necesario con un requerimiento diario en la dieta que oscila entre 0,3 a 2 g.

Las aceitunas verdes son un aporte importante en hierro, cobre y zinc, con una cantidad por aceituna sin hueso que oscila de 1,80, 0,27 y 0,51 mg cada 100g. El contenido de zinc en aceitunas verdes naturales se compara al contenido de este en la cebolla, considerada como uno de los vegetales con más aporte de zinc. La pérdida de alrededor de un 30 % de este elemento en las aceitunas procesadas resulta muy significativo.

El aporte del fósforo no es muy importante si se lo compara con el aporte de otras frutas u vegetales.

Conforme al análisis estadístico las tres variedades de aceitunas, Manzanilla, Arbequina y Arauco se comportan de manera similar después de la elaboración; con valores de pérdidas de minerales muy parecidos entre ellas para cada elemento determinado. El análisis cotejado para cada elemento muestra diferencias entre las concentraciones de los elementos como es previsible ya que originalmente presentan valores diferentes en especial Na y K.

6. Referencias

Caeiro, R.E. (2012) *Dinámicas de las transformaciones en los territorios olivícolas de la provincia de Catamarca, Argentina*. Estación Experimental Agropecuaria INTA Catamarca. En: rcaeiro@correo.inta.gov.ar.

Burlo, F.; Carbonell-Barrachina, A.; Martínez, F.; Valero, D.; (2003) *Control de calidad y seguridad postcosecha de productos hortícolas procesados de la Vega Baja de Segura (Alicante)*. CSIC-ISBN-84-00-08185-4. Editores: Carmen Merodio y María Isabel Escribano. GRAFICS/85, S.A. Madrid

Cáceres, R.; Novello R.; Robert, M. (2009). *Análisis de la cadena del olivo en Argentina. Estudios Socioeconómicos de los Sistemas Agroalimentarios y Agroindustriales*. Ediciones Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria –INTA. ISSN 1852-4605. 2: 21-40

Reinhold, J.G., (1988) In: *Trace Minerals in Foods*, ed. Smith, K.T., Marcel Dekler, New York, pp. 1-55.

Schmidl, M.K. 2000. "Trends and Directions in the Food Industry." "Food Australia", 52(4):145

Mecano, E.; Gómez, C.; Benzo, Z.; Laine, J.; (2010) *Estudio preliminar sobre la determinación de elementos traza en cervezas venezolanas por ICP-OES*. Quím. Nova vol.33 no.3 São Paulo. Print version ISSN 0100-4042 En <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422010000300032>

Matías, A.; Molina S., Aybar, V., Ladux, J.y Ortiz J. (2012). *Olivicultura Argentina Regional*. - INTA Catamarca. Inta.gov.ar/documentos

González, F. and Rejano, L., (1984) *La pasteurización de aceitunas estilo sevillano*. Grasas y Aceites 35, 4, 235-239.

Arancibia Araya, V. (2006) *Tipos de elaboración de aceitunas*. Informativo N° 28. Gobierno de Chile. Ministerio de Agricultura. INIA IntiHuasi

12TCA. Expeller de soja como soporte de *L. casei* y efecto de la presencia del probiótico sobre la composición de la pared celular del tejido vegetal.

Soybean expeller as a support for *L. casei* and effect of the presence of probiotic on the composition of the cell wall of vegetable tissue.

Adriana Castellanos Fuentes ¹, Carolina Genevois ², Silvia Flores ^{1,3}, Marina de Escalada Pla ^{1,3}.

1. Departamento de Industrias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Intendente Güiraldes 2160, CABA, Buenos Aires, Argentina.
2. Centro de Investigaciones y Transferencia de Entre Ríos (CITER) - Universidad Nacional de Entre Ríos (UNER). Pte. Perón 64, Gualaguaychú, Entre Ríos, Argentina.
3. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

cgenevois@di.fcen.uba.ar

Resumen

El expeller de soja se obtiene de la extracción del aceite y se utiliza en la formulación de piensos de alto valor nutricional ya que representan la principal fuente proteica (40-47%). Tomando como base resultados previos, se preparó un sistema con 1 g de expeller natural (EN) tamaño de partícula promedio ($\approx 393,75 \mu\text{m}$), $4,74 \text{ cm}^3$ de agua destilada y 0,32 g de suero lácteo. Se esterilizó a 120°C durante 20 minutos y se inoculó con una suspensión de *L. casei* ($\approx 10^3$ UFC/cm³). Luego de 20 h, se centrifugó, lavó y deshidrató obteniendo la fracción Expeller Inoculado (EI). Del mismo modo se llevó a cabo un sistema control (EC) pero sin inocular. El AIR se obtuvo por tratamiento etanólico de los distintos sistemas (EN, EI y EC). El mismo fue utilizado para cuantificar ácidos urónicos, hidratos de carbono totales (no celulósicos), celulosa y lignina. El tratamiento realizado sobre el EN redujo significativamente el contenido de AIR. En general, no se observaron diferencias en la composición del AIR debido a la presencia de *L. casei*. El EC presentó un contenido de ácidos urónicos levemente mayor ($p < 0,05$) respecto del EI. La supervivencia de *L. casei* a la digestión gastrointestinal *in vitro* mejoró notablemente cuando estuvo soportada en la matriz vegetal.

Palabras clave: Expeller de soja, *Lactobacillus casei*, Subproducto Vegetal, Composición química.

Abstract

The soybean expeller is obtained from the extraction of the oil and is used in the formulation of feed of high nutritional value since they represent the main protein source (40-47%). Based on previous results, a system was prepared with 1 g of natural expeller (EN), average particle size ($\approx 393.75 \mu\text{m}$), 4.74 cm^3 of distilled water and 0.32 g of whey. It was sterilized at 120°C for 20 minutes and inoculated with a suspension of *L. casei* ($\approx 10^3$ CFU/cm³). After 20 h, it was centrifuged, washed and dehydrated obtaining the Expeller Inoculated fraction (EI). In the same way, a control system (EC) was carried out but without inoculation. The AIR was obtained by ethanolic treatment of the different systems (EN, EI and EC). It was used to quantify uronic acids, total carbohydrates (not cellulose), cellulose and lignin. The treatment performed on the EN significantly reduced the AIR content. In general, no differences were observed in the composition of the AIR due to the presence of *L. casei*. The EC presented a slightly higher uronic acid content ($p < 0.05$) respect to EI. The survival of *L. casei* to *in vitro* gastrointestinal digestion notably improved when was supported in the plant matrix.

Keywords: Soybean expeller, *Lactobacillus casei*, Vegetable by-product, Chemical composition.

6. Introducción

La industria de la molienda de soja es una actividad de márgenes muy reducidos, donde la materia prima principal, el poroto, es por lejos el principal costo de

la industria. Se estima que la producción de harina de soja, uno de los subproductos de la industria aceitera, superaría los 40 millones de toneladas en la campaña 2020-2021 (IERAL, 2011). De acuerdo a la normativa vigente en Argentina, se entiende por

subproductos oleaginosos, a los residuos sólidos resultantes de la extracción industrial del aceite de granos oleaginosos. La expansión en el agro argentino tiene estrechas vinculaciones con la evolución de las variables externas, teniendo en cuenta que prácticamente su totalidad tanto en forma de poroto, pellets, como aceite de soja se exporta hacia el resto del mundo (Strada and Vila, 2016). De este proceso, las plantas aceiteras en su conjunto podrían llegar a obtener cerca 8,8 millones de toneladas de aceite de soja, que representan el 19% de 45,5 millones de Tn., de poroto triturados. Mientras que el 78% restante, 34,5 millones de toneladas corresponden a subproductos, expeller de soja, harina y pellets de bajo valor (Calzada and Rossi, 2016).

El expeller de soja que se obtiene luego de la extracción del aceite, es un concentrado con un importante contenido proteico (por lo general entre 40 y 47% sobre materia seca). Los expeller y las harinas de soja en sus diferentes formas se utilizan en la formulación de piensos de alto valor nutricional ya que representan la principal fuente de proteína y de aminoácidos esenciales.

Tal como lo define la Organización Mundial de la salud (OMS), los probióticos son microorganismos vivos que, cuando son suministrados en cantidades adecuadas, promueven beneficios en la salud del organismo del huésped. Hoy en día, existe un consenso general sobre la importancia de la microflora intestinal en la salud y el bienestar de los seres humanos y los animales. La modulación de la microflora del huésped se logra mediante la ingesta de probióticos y/o prebióticos. Los microorganismos probióticos deben tener la capacidad de sobrevivir en las duras condiciones del procesamiento de los alimentos, resistir los jugos gástricos y la exposición a las sales biliares, y deben poder crecer y colonizar el tracto intestinal. Además, también deben mantener su eficacia y potencia durante la vida útil del producto (Saad *et al.*, 2013) y estar presentes en el producto final formulado. Deben presentar al menos 10^6 UFC por gramo para cumplir con la legislación local (Administración Nacional de Drogas, Alimentos y Tecnología Médica [ANMAT], 2011).

El objetivo de este estudio fue analizar el efecto del procesamiento y la inoculación del expeller de soja con *Lactobacillus casei* sobre las propiedades químicas de la pared celular del tejido vegetal a fin de agregar valor a este subproducto, además se buscó determinar la resistencia del probiótico durante la etapa del procesamiento y posterior digestión gástrica simulada *in vitro*.

7. Materiales y métodos

Materiales

Los recortes de expeller fueron donados por R-Mix SRL proteico (Urdinarrain, Entre Ríos), los cuales se molieron (D-56 Moulinex, Buenos Aires, BA, Argentina) y tamizaron en un juego de tamices (Zonytest, Rey Ronzoni S.R.L., Bs As. Argentina). Obteniendo las siguientes fracciones en cuanto al tamaño de partícula promedio: 630,00; 393,75 y 175,50 μm . Las distintas fracciones, con un contenido de humedad final de 5,5% fueron almacenadas en bolsas al vacío a -18°C y descongeladas antes de su uso (sistema EN). Otros materiales utilizados fueron: suero de queso en polvo (Mastellone, Buenos Aires, BA, Argentina), agar y caldo (MRS) (Biokar Diagnostics, Beauvais. OI, Francia) y los reactivos químicos utilizados fueron de grado analítico (Research AG. S.A. Argentina).

Preparación del inóculo

El inóculo se preparó mediante la transferencia de 1 cm^3 del cultivo madre crio-conservado conteniendo *L. casei*, en un matraz de 250 cm^3 con 30 cm^3 de caldo MRS estéril. El cultivo de células se incubó a 37°C durante 20 h en una cámara (Inquilab I-290, Argentina) con agitación constante de 120 rpm (Vicking, Argentina). El inóculo se consideró adecuado para los ensayos cuando presentó al menos $9,00\text{ log UFC/cm}^3$ de *Lactobacillus casei*.

Preparación de los Sistemas.

En estudios previos (Castellanos *et al.*, 2016), se optimizaron las condiciones de un medio a base de expeller de soja, para maximizar el crecimiento celular de *L. casei* ATCC 393, a fin de obtener un ingrediente funcional conteniendo el probiótico soportado en una matriz vegetal. De manera que tomando de base los resultados previos, se preparó un sistema con ($\approx 1,0000\text{ g}$) de expeller seco (EN) tamaño de partícula promedio ($\approx 393,75\text{ }\mu\text{m}$), $4,74\text{ cm}^3$ de agua destilada y $0,32\text{ g}$ de suero de queso. Posteriormente, se esterilizó a 120°C durante 15 minutos y se enfrió. Este sistema se inoculó con una suspensión de *L. casei* de $\approx 10^3\text{ UFC/cm}^3$ de caldo MRS (Biokar, Francia). Luego de 14 h se centrifugó, lavó y deshidrató obteniendo la fracción de soja Expeller Inoculado (sistema EI). Un sistema control, Expeller Control (sistema EC), se llevó a cabo del mismo modo pero sin inocular.

Condiciones gastrointestinales simuladas.

La resistencia de *L. casei* a las condiciones gastrointestinales simuladas se evaluó en el expeller inoculado (EI) reconstituido en agua bidestilada estéril. El ensayo se realizó de acuerdo a Guergoletto *et al.* (2010); con algunas modificaciones sugeridas

por Genevois *et al.* (2016) y que se detalla a continuación.

En la digestión gastrointestinal simulada se incluyeron tres pasos: digestión bucal, gástrica e intestinal. Brevemente, se reconstituyeron 0,5 g de (EI) que contenía $9,0 \pm 0,1 \log$ (UFC/g) de *L. casei* con 9,0 cm³ de agua bidestilada estéril, mezclando por 2 minutos con ayuda de un vortex (MSI minishaker IKA®, Campinas, SP, Brasil). Inmediatamente, se llevó a incubación a 37 °C con agitación orbital a 120 rpm durante 30 min. Luego, fue mezclado con 5 cm³ de saliva artificial [NaCl (6,2 g L⁻¹), KCl (2,2 g L⁻¹), CaCl₂ (0,22 g L⁻¹), NaHCO₃ (1,2 g L⁻¹)], seguido de agitación durante 2 min. con vortex. Inmediatamente, la digestión gástrica se realizó mediante la adición de 30 cm³ de una solución de HCl-pepsina [pepsina al 0,3% (p/v) (Merck, 0,7 FIP-U/mg) en HCl 0,01 N] seguido de incubación a 37°C (I-290, INGELAB, AR) con agitación orbital a 120 rpm durante 1:45 h. Luego, se ajustó el pH de la solución gástrica a 7,5-8,0 con una solución estéril de NaOH 2 M, y finalmente, se adicionó 30 cm³ de solución intestinal (KH₂PO₄ 0,05 M) conteniendo sales biliares (0,6% p/v). Nuevamente, se llevó a incubar a 37°C con agitación orbital a 120 rpm durante 1:45 h.

El proceso de digestión gastrointestinal se realizó al menos por duplicado y la viabilidad de *L. casei* se determinó mediante recuento de placas en agar MRS al inicio, final de la digestión gástrica y final de la digestión intestinal. La resistencia a las condiciones gastrointestinales simuladas fue calculada con la Ecuación 1:

$$\text{Resistencia (\%)} = \frac{\log(\text{UFC}/\text{cm}^3)_{\text{Final digestión}}}{\log(\text{UFC}/\text{cm}^3)_{\text{Previo digestión}}} \times 100 \quad (1)$$

Con fines comparativos, un inóculo de *L. casei* en caldo MRS en concentración similar a la de EI ($\approx 9 \log$ UFC/cm³) fue sometido a idénticas condiciones de digestión gastrointestinal.

Residuo Insoluble en Alcohol (AIR)

El residuo insoluble en alcohol (AIR), se obtuvo luego de pesar $\approx 2,0$ g de polvo de los correspondientes sistemas mezclados con 70 cm³ de solución de etanol (80%, v/v), se llevó a ebullición durante 30 min en platina calefactora con agitación constante. Posteriormente, las suspensiones fueron filtradas a través de filtro de fibra de vidrio (Schleicher&Schuell, Alemania) colocado sobre un embudo Büchner con kitasato conectado a una bomba de vacío (Dosivac, Argentina), descartando el solvente. Este mismo procedimiento se volvió a repetir pero con un tiempo de ebullición de 15 min. Luego, el residuo insoluble se mezcló con 50 cm³ de solución de etanol (80%, v/v) y se llevó a ebullición durante 15 minutos. La suspensión se filtró para separar el residuo insoluble y el solvente se descartó. Este mismo procedimiento se repitió 2 veces más.

Finalmente, el residuo insoluble se lavó con 20 cm³ de solución de etanol 80% (v/v) y luego con 20 cm³ de solución de etanol 96% (v/v). El material se dejó bajo campana durante 18 h para la eliminación del etanol, luego se congeló y finalmente fue liofilizado durante 48 h. El AIR obtenido fue utilizado para cuantificar ácidos urónicos, carbohidratos totales (no celulósicos), celulosa y lignina de acuerdo a de Escalada Pla *et al.*, (2007).

Viabilidad celular de *Lactobacillus casei*

El recuento de células viables de *Lactobacillus casei* (LC), se realizó mediante diluciones seriadas en agua peptona estéril 0,1% (p/v) (Biokar Diagnostics, Beauvais, OI, Francia) por duplicado. Las alícuotas de 100 µl de las diluciones seleccionadas fueron sembradas en profundidad con Agar MRS (Biokar Diagnóstico, Beauvais, OI, Francia) e incubadas a 37°C durante 72 h en condiciones aeróbicas. Los resultados fueron expresados como log (UFC/g de muestra seca), informando el valor promedio \pm desvío estándar (DE) de las determinaciones.

Determinación del pH

La medición de pH, se realizó en el sobrenadante obtenido luego de centrifugar al final de la etapa de fermentación, utilizando un electrodo de superficie combinado de vidrio Ag^o/AgCl conectado a un pH metro (Cole-Parmer, USA). Las mediciones fueron realizadas por duplicado. Antes de cada análisis, el pH metro fue calibrado con soluciones buffer de pH 7,0 y pH 4,0.

Determinación de acidez total

La acidez total fue determinada mediante titulación de alícuotas de 5 ml de sobrenadante con una solución de NaOH (0,01N) utilizando fenolftaleína como indicador. Las mediciones fueron realizadas por duplicado. El resultado fue expresado en mili-equivalentes de ácido láctico/g de sistema, de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\text{Acidez Total} = \left[\frac{V_{\text{NaOH}} \cdot N_{\text{NaOH}}}{V_{\text{alícuota}}} \right] * \frac{V_{\text{sobrenadante}}}{P_{\text{muestras}}} * 1000 \quad (2)$$

Dónde: N_{NaOH} (ml) = volumen NaOH gastados; N_{NaOH} = Normalidad del NaOH (0,01N) y $V_{\text{alícuota}}$ (mL) = volumen de muestra titulado (5 ml).

Determinación de a_w y Contenido de Humedad

La a_w se midió utilizando un higrómetro a 20°C (Aqualab Series 3, Decagon Devices Inc., Pullman, WA, USA). El contenido de humedad se analizó utilizando un analizador de humedad (Ohaus MB-45, NJ, USA) a través de un perfil de secado de 4

min a 180°C hasta una pérdida de humedad menor a 1 mg en 30 seg.

Todas las mediciones se realizaron al menos por duplicado e informando el valor promedio \pm DE.

Determinación de Ácidos Urónicos, Hidratos de Carbono no Celulósicos, Celulosa y Lignina en la fibra de Expeller de soja.

Las extracciones que a continuación se detallan se realizaron por duplicado sobre el AIR obtenido a partir de los sistemas. En todos los ensayos se utilizó agua desionizada (Milli-Q, EEUU). Todas las determinaciones se llevaron a cabo al menos por duplicado.

Ácidos Urónicos

Se pesaron por duplicado exactamente alrededor de 0,3000 g de AIR obtenido, trasladando la cantidad pesada a un vaso de precipitado de vidrio de 50 cm³ de capacidad. Cada porción pesada fue dispersada en 2,08 cm³ de ácido sulfúrico 72% (v/v) con la ayuda de una varilla de vidrio, la cual fue mantenida en el vaso hasta el final del ensayo y se llevó a una concentración 1M de ácido sulfúrico por agregado del volumen necesario de agua desionizada (\approx 25 cm³). El contenido fue homogeneizado con una varilla de vidrio y calentado a 100 °C durante 1 hora en baño de agua a 100 °C (Ng *et al.*, 1998).

Las suspensiones obtenidas fueron enfriadas y luego sometidas a centrifugación a 12000 x g durante 10 min; se separó el residuo del sobrenadante conservándose ambos; el sobrenadante obtenido se neutralizó con NaOH hasta un pH entre (5-7). Los sobrenadantes fueron utilizados para determinar el contenido de ácidos urónicos. El contenido de ácido D-galacturónico (o ácidos urónicos totales) fue determinado a través del método espectrofotométrico reportado por Filisetti-Cozzi y Carpita (1991). Se informa el promedio y el desvío estándar de al menos cuatro lecturas independientes.

Hidratos de carbono no celulósicos

Se aplicó inicialmente el mismo procedimiento seguido para la extracción de ácidos urónicos de las muestras, pero la suspensión fue hidrolizada mediante calentamiento a 100 °C durante 2,5 horas (Ng *et al.*, 1998). Las suspensiones obtenidas fueron enfriadas y centrifugadas a las mismas condiciones anteriormente mencionadas; luego se separó el residuo del sobrenadante el cual fue neutralizado con NaOH. Recuperando el sobrenadante que contiene, disueltos, todos los polisacáridos no celulósicos, los cuales se cuantificaron posteriormente. Se procedió luego con sucesivos lavados del residuo sólido (pellet) con un mínimo volumen de agua desionizada, agitando con vórtex (IKA, Alemania),

para eliminar la solución de H₂SO₄ remanente. Luego con los sobrenadantes obtenidos se mantuvieron congelados en freezer hasta la determinación del contenido total de polisacáridos no celulósicos por el método colorimétrico de Dubois *et al.* (1956), utilizando glucosa para la curva estándar. Se informa el promedio y el desvío estándar (DE) de al menos cuatro lecturas independientes.

Además, el residuo obtenido luego del último lavado fue recuperado, congelado y liofilizado. El residuo seco fue entonces pesado para así calcular el contenido de celulosa+lignina de cada fracción, informando el promedio y el DE.

Lignina

Para esta determinación se siguió el procedimiento indicado anteriormente, pero el AIR de los sistemas fue hidrolizado primero por agregado de 2,08 cm³ de ácido sulfúrico 72% (v/v), homogeneizando con la ayuda de una varilla de vidrio, y dejando en contacto durante 3 horas a temperatura ambiente, pasadas las cuales se agregó agua desionizada (\approx 25 cm³), llevando a una concentración 1M de ácido sulfúrico. Inmediatamente después, la suspensión resultante fue homogeneizada y calentada en baño de agua a 100 °C durante 2,5 horas (Ng *et al.*, 1998), según el procedimiento completo indicado en los ácidos urónicos. El residuo liofilizado y pesado aquí obtenido luego del último lavado corresponde al contenido de lignina de la fracción analizada. Restando este contenido de lignina (expresado en %) al contenido de celulosa+lignina (expresado en %) obtenida al pesar el residuo de los hidratos de carbono no celulósicos, se determina el porcentaje de celulosa del AIR de cada sistema. Se informa el promedio y el DE.

Análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante análisis de la varianza (ANOVA) con un nivel de significancia (α) del 0,05 seguido por un método de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher para discriminar entre las medias. Para el análisis estadístico se utilizó el programa Statgraphics Centurion XV (V 2, 15,06, 2007, USA).

8. Resultados y Discusión

Luego del periodo de fermentación, el sistema EI mostró un pH de 5,96 \pm 0,02 y una acidez titulable de 0,35 \pm 0,01 de mEq., de ácido láctico/g. Las bacterias ácido lácticas metabolizan los azúcares presentes, fundamentalmente los aportados por el suero lácteo, produciendo ácidos orgánicos,

principalmente ácido láctico, y en consecuencia el pH del medio se reduce (Aguirre-Ezkauriatza, *et al.*, 2010, Genevois *et al.*, 2016).

Una vez lavado, deshidratado, molido y tamizado, el sistema EI presentó un contenido de humedad de $7,6\pm 0,8\%$ y una a_w de $0,415\pm 0,004$. Valores de a_w por debajo de 0,6 contribuyen a mantener el sistema EI estable microbiológicamente (Adam & Moss, 2008).

La fracción insoluble en alcohol (AIR) concentra principalmente el material de la pared celular de los tejidos vegetales (Ng *et al.*, 1998) quedando compuesta fundamentalmente por componentes de la fibra dietaria. En la Tabla 1. se muestra la composición química del AIR de los diferentes sistemas obtenidos EC, EI y EN.

Tabla 1. Composición del AIR de los distintos sistemas producidos a partir del Expeller de Soja.

	EC	EI	EN
AIR	62 ± 2^b	58 ± 6^{ab}	49 ± 2^a
Celulosa %	19 ± 4^a	15 ± 3^a	16 ± 6^a
Lignina %	8 ± 3^a	9 ± 2^a	6 ± 3^a
H de C ¹	200 ± 10^a	190 ± 10^a	190 ± 30^a
AGU ²	150 ± 30^b	110 ± 20^a	100 ± 20^a

EC: Expeller control. EI: Expeller inoculado. EN: Expeller natural

¹HdeC: Hidratos de Carbono no Celulósicos expresados como mg glucosa/g AIR. ²AGU: Ácidos urónicos expresados como mg de ácido galacturónico/g AIR.

Letras diferentes en la misma fila denotan diferencias significativas ($p<0,05$).

Entre un 49 y un 62% de los sistemas resulto ser material de pared celular. Los valores obtenidos fueron muy similares. Las fracciones de EC y EN presentaron diferencias significativas ($p<0,05$). Podría inferirse que durante el proceso recibido por EC y EI, el agregado de agua, suero y el posterior proceso de esterilización, centrifugado y lavado, se pierde material del tejido de bajo peso molecular presente en el EN concentrándose de ese modo los componentes de mayor peso molecular que componen el AIR. Durante el proceso de fermentación tiende a reducirse el contenido de AIR pero de manera no significativa ($p>0,05$). Los sistemas no presentaron diferencias significativas en cuanto a la composición de lignina, de celulosa y de hidratos de carbono no celulósicos. Mientras que, el sistema control (EC) presentó un contenido de ácidos urónicos levemente mayor ($p<0,05$).

Posiblemente durante la etapa de fermentación los mismos fueron hidrolizados como consecuencia de la presencia de *L. casei* y de ese modo, se vio reducida ($p<0,05$) la cantidad de AGU en el sistema EI (Katrien *et al.*, 2000).

De acuerdo a la legislación vigente, para que un alimento sea considerado probiótico, debe presentar al menos 10^6 UFC por gramo (Administración Nacional de Drogas, Alimentos y Tecnología Médica [ANMAT], 2011). La viabilidad de *L. casei* luego del proceso de homogeneización estuvo dentro de los valores exigidos por este organismo, mostrando un recuento inicial de $8,33\pm 0,8$ log (UFC/g EI). No obstante, para que pueda ejercer el efecto benéfico en la salud del huésped debe resistir las condiciones drásticas de la digestión gastrointestinal y llegar viable en suficiente cantidad para colonizar el colon. De manera que, en cuanto a la funcionalidad del *L. casei*, es importante conocer su resistencia a las condiciones de digestión gastrointestinal.

Este parámetro se corroboró a través del ensayo de resistencia del probiótico a las condiciones simuladas de digestión gastrointestinal *in vitro*. El porcentaje de supervivencia, se muestra en la **Figura 1**. A fines comparativos, se presenta además la supervivencia de las células cuando fueron sometidas al mismo proceso de digestión sin estar soportadas en el expeller de soja (células libres). Se pudo observar que alrededor del 70 % de las células de *L. casei* presentes en EI soportaron las condiciones gastrointestinales simuladas. Cuando las células de *L. casei* provinieron de un inóculo fresco (CL), éstas lograron sobrevivir a las condiciones gástricas solo en un 30 %. Resultados similares fueron reportados por Guergoletto *et al.*, (2010), quienes demostraron una elevada tasa de supervivencia de *L. casei* cuando este se encontraba soportado en salvado de avena sin la adición de ningún agente protector. En trabajos previos, los autores pudieron observar el efecto protector de la matriz de calabaza sobre la cepa de *L. casei* aquí utilizada cuando la misma era sometida a situaciones de stress por pH reducido (Genevois *et al.*, 2016).

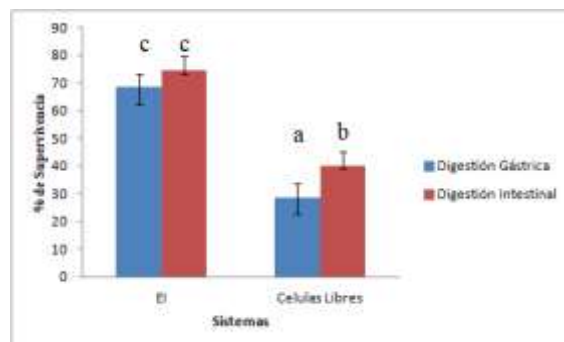


Figura 1. Porcentaje de supervivencia de *Lactobacillus casei* sometido a las condiciones simuladas de digestión gástrica e intestinal en (EI) y células libres (CL).

Letras diferentes denotan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre barras de un mismo color.

9. Conclusiones

Puede concluirse que el expeller de soja fue utilizado efectivamente por el *Lactobacillus casei* como sustrato/soporte. En general, la presencia del mismo no produjo mayores efectos sobre las propiedades químicas del AIR del expeller de soja. Sin embargo, la resistencia de la cepa de *L. casei* a las condiciones gastrointestinales *in vitro* mejoró notablemente cuando estuvo soportada en la matriz vegetal.

El tratamiento realizado sobre la materia prima, EN, previo a la inoculación, redujo significativamente el contenido de AIR.

El polvo obtenido podría ser utilizado como suplemento dietario conteniendo probióticos y con un aporte adicional de fibra dietaria proveniente de la matriz vegetal.

La biotransformación de subproductos de extracción del aceite de soja, permite agregarle valor a la cadena agroindustrial mediante una eficiente transformación de la proteína vegetal.

10. Referencias

Adams, M. R.; Moss, M.O. (2008). *Factors affecting the growth and survival of micro-organisms in foods*. In Food Microbiology. 3rd Edition. RSC Publishing, Cambridge, UK. pp 20-61.

Aguirre-Ezkauriatza, E. J.; Aguilar-Yáñez, J. M.; Ramírez-Medrano, A.; Alvarez, M. M. (2010). *Production of probiotic biomass (Lactobacillus casei) in goat milk whey: Comparison of batch, continuous and fed-batch cultures*. Bioresource Technology, 101(8), 2837–2844. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.10.047>.

ANMAT (2011). Resolución Conjunta 261/2011 y 22/2011, Pub. L. No. 261/2011; 22/2011. Argentina.

Calzada, J. Rossi G. (2016). 84% de la soja argentina se exporta como grano, harina, aceite y biodiesel. Informativo Semanal de la Bolsa de Comercio de Rosario, N° 1750. Disponible en: https://www.bcr.com.ar/Pages/Publicaciones/informativos/emanal_noticias.aspx?pldNoticia=55.

Castellanos Fuentes, A.; Torres, V.; Flores, S.; de Escalada Pla, M. (2016). *Utilización de Okara para la obtención de un ingrediente funcional conteniendo Lactobacillus casei*. Actas del VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CICyTAC 2016). Córdoba.

de Escalada Pla, M. F.; Ponce, N. M.; Stortz, C. A.; Gerschenson, L. N.; Rojas, A. M. (2007). *Composition and functional properties of enriched fiber products obtained from pumpkin (Cucurbita moschata Duchesne ex*

Poiret). LWT - Food Science and Technology, 40(7), 1176–1185. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.08.006>

Dubois, M.; Gilles, K.A.; Hamilton, J.K.; Roberts, P.A.; Smith, F. (1956). *Colorimetric method for determination of sugars and related substances*. Analytical Chemistry, 28, 350-356.

Filiseti-Cozzi, T. M. C. C.; Carpita, N. C. (1991). *Measurement of uronic acids without interference from neutral sugars*. Analytical Biochemistry, 197, 157–162.

Genevois C.; Flores S.; de Escalada Pla M. (2016). *Byproduct from pumpkin (Cucurbita moschata Duchesne ex poiret) as a substrate and vegetable matrix to contain Lactobacillus casei*. Journal of Functional Foods, 23, 210–219.

Guergoletto, K. B.; Magnani, M.; Martin, J. S.; Andrade, C. G. T. D. J.; Garcia, S. (2010). *Survival of Lactobacillus casei (LC-1) adhered to prebiotic vegetal fibers*. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 11(2), 415–421. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.11.003>

IERAL de Fundación Mediterránea. (2011). Disponible en:

http://www.ieral.org/images_db/noticias_archivos/1890.pdf

Katrien, M. J.; Van Laere, R.; Hartemink, M.; Bosveld, H. A.; Schols, A.; Voragen, G. J. (2000). *Fermentation of plant cell wall derived polysaccharides and their corresponding oligosaccharides by intestinal bacteria*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48 (5), 1644–1652.

Ng, A.; Parr, A. J.; Ingham, L. M.; Rigby, N. M.; Waldron, K. W. (1998). *Cell wall chemistry of carrots (Daucus carota cv, Armstrong) during maturation and storage*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46, 2933–2939.

Saad, N.; Delattre, C.; Urdaci, M.; Schmitter, J. M.; Bressollier, P. (2013). *An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field*. LWT - Food Science and Technology, 50(1), 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.05.014>

Strada, J.; Vila, I. A. (2016). *La producción de soja en Argentina: causas e impactos de su expansión*. Disponible en: <http://www.centrocultural.coop/revista/articulo/550/>. ISSN 1851-3263.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo financiero de la Universidad de Buenos Aires (UBACyT GEF 2014-2017 20020130200237), al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y a la empresa R-Mix SRL proteico (Urdinarrain, Entre Ríos) quien suministro el expeller utilizado en estetrabajo

13TCA. Agregar valor a la carne de conejo mediante la elaboración de productos cárnicos.

Add value to rabbit meat by preparing meat products.

Marcelo Ponti¹, Jorge Jarabo¹, Cynthia Kossman² y Alicia Gallo¹

1. Universidad Nacional de Luján, Buenos Aires, Argentina. 2. Escuela Agrotécnica El Tatú, Zárate, Buenos Aires, Argentina. aligsgo@gmail.com

Resumen

En el marco de un proyecto Procodas se propone agregar valor a la crianza de conejo de la Escuela de Educación Agropecuaria N°1, Paraje el Tatú, Zárate, realizando un aprovechamiento integral de la carne con la elaboración de productos cárnicos. La elección de las alternativas obedece al criterio de máximo aprovechamiento de la materia prima y a la obtención de productos diferenciales. Por ello se seleccionaron jamón crudo (premium), fiambre cocido (mayor rendimiento en relación a la materia cárnica) y chorizo fresco (utilización de los recortes de carne). Para la elaboración de los productos se utilizaron aditivos y materiales usuales en la industria cárnica, cumpliendo con la normativa higiénico sanitaria. **Los productos diseñados obtuvieron resultados muy satisfactorios en los ensayos preliminares de análisis sensorial. El porcentaje de utilización en peso de la canal de conejo es elevado, 89,30%. Los resultados son muy promisorios ya que se brinda a una escuela agro-técnica la alternativa de aprovechamiento integral de su producción de carne de conejo y un agregado de valor en la comercialización de productos cárnicos tipo delikatessen.**

Palabras clave: conejo, aprovechamiento, despostada, productos cárnicos.

Abstract

In Procodas project, between UNLu and School of Agricultural Education No. 1, Paraje el Tatú, Zárate, it is proposed an integral rabbit meat use in order to add value of meat products. The selected alternatives obeys to the criterion of maximum use of raw material and obtain differential products. Therefore, raw ham (premium), cooked cold cuts (higher yield in relation to meat) and fresh chorizo (sausage) to exploit little cuts of meat, were selected. Additives and usual materials used in meat industry were applied in the manufacture of products, complying with sanitary-hygienic regulations. The developed products obtained very satisfactory results in preliminary tests, a high percentage utilization of rabbit carcass were used, that corresponds to 89.30%. The results are very promising because they offer integral use to the agro-technical school of its production of rabbit meat and added value in the marketing of delikatessen type meat products.

Key words: rabbit, exploitation, meat cutting, meat products.

1. Introducción

La carne es un alimento rico en proteínas, fuente de aminoácidos esenciales y en menor medida vitaminas del grupo B y minerales, dentro de los cuales el hierro es destacable debido a su alta concentración y disponibilidad.

En la Argentina las carnes más consumidas per cápita en el año 2016, fueron la vacuna (56,47 Kg/habitante/ año), aviar (45,4 Kg/habitante/ año) y la porcina (12,88 Kg/habitante/ año) (Ministerio de Agroindustria, 2016).

Como carnes rojas, de mucho menor consumo pueden citarse el jabalí, ciervo y conejo. Particularmente esta última en nuestro país presenta muy bajo consumo (1,80 Kg/habitante/ año).

China fue el mayor productor de carne en el mundo desde 2009, con 78,21 millones de toneladas de carne en el año de 2009 (28% de la producción total) (Li, 2013).

La producción total de carne en 2015 rondó los 86 millones de toneladas de las cuales más del 60% es cerdo.

De los productos cárnicos tradicionales, más del 80% se elaboran a partir de carne de cerdo, con menor contenido de carne de vacuno, pato, conejo y de caza (Weicai Zeng *et al.*, 2016).

Las características nutricionales de la carne de conejo (Della Zotte *et al.*, 2011) deben ser tenidas en cuenta por su excelente aporte nutricional promedio (20% de proteína, 4% de grasa y 73% de humedad) (Tablas de composición de alimentos de Uruguay e Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá, 2017).

La carne de conejo (sin piel y sin grasa) está dentro de los alimentos elegidos para reducir el colesterol, por lo que se recomienda su consumo diario (Pérez-Jiménez *et al.*, 2006).

El Código Alimentario Argentino (CAA) en el capítulo VI “Alimentos cárneos y afines”, define la carne de conejo como producto de la caza menor (art. 262). Sin embargo, los derivados cárnicos como jamón crudo, fiambre cocido y chorizo fresco hacen referencia a carnes porcinas, vacunas y ovinas.

Los productos cárnicos que incluyen sólo carne de cerdo se clasifican en:

- 1- Salazones (art. 286) que se dividen en cocidas como por ejemplo jamón cocido y crudas a la que pertenece el jamón crudo (art. 293).
- 2- Chacinados (art. 302) que se clasifican en embutidos frescos, chorizo fresco (art. 327), secos (salame) y cocidos (morcilla) y no embutidos frescos (hamburguesa) y cocidos como fiambre cocido (art. 360 bis)

En los chacinados la cantidad de materias grasas máxima es del 50% de la masa del producto terminado (art 319) y la cantidad máxima de agua, calculado sobre producto desgrasado, es del 75% (art 320).

En la elaboración de chorizo fresco se permite adicionar hasta 5% de sustancias amiláceas alimenticias y, texturizado de soja como máximo 2% en peso, referido al producto terminado y en el fiambre cocido los valores máximos son 10% y 2% respectivamente (art.323)

En algunos casos están restringidos a la carne de cerdo, tal como el jamón crudo (artículo 293), o son generales para cualquier tipo de chacinados como fiambre cocido de cerdo (artículo 360 bis) y chorizo fresco (artículo 327).

La carne de conejo se ha utilizado en otros países en la formulación de embutidos (Cury *et al.*, 2011). Puntualmente sobre los productos fiambre cocido de conejo y jamón crudo de conejo, no hay bibliografía disponible.

Se propone como objetivo, en el marco de un proyecto Procodas integrado por la Escuela de Educación Agropecuaria N°1, Paraje el Tatú, Zárate junto a la UNLu, agregar valor a la crianza de conejo realizando un aprovechamiento integral de la carne, mediante la elaboración de productos cárnicos.

2. Materiales y métodos

La crianza de conejo se realiza en la Escuela Agrotécnica, donde se usan dos razas carniceras por excelencia: Neozelandés blanco y Californiano, el cruzamiento entre ambas razas, es un híbrido que cuando logra un peso de aproximadamente 3kg, se faena. También van a faena, reproductores de descarte cuyo peso de faena puede ser de 4,5 a 5 kg. Las canales resultantes se mantuvieron congeladas a -18°C. Para su utilización se descongelaron en refrigeración a 5°C durante 24 horas. Además como materia prima se utilizó tocino de cerdo, para lograr las formulaciones propuestas.

Para la elaboración de los productos se utilizaron aditivos y materiales usuales en la industria cárnica que se detallan para cada producto seleccionado.

Despostada

Primero se realiza la despostada de la canal con una cuchilla sobre una tabla sanitaria y con protección personal, utilizando un guante de acero inoxidable anti-corte.

Consiste en un corte primario: se retiran los cuartos traseros (piernas), delanteros (brazos) y el centro (depósitos grasos inguinal, escapular y perirrenal, junto con los músculos Longissimus, la pared abdominal y el espinazo).

Simultáneamente se retiran grasa, pulmón, riñón e hígado.

A diferencia de los cortes típicos de porcino, el tramo central se mantiene entero por lo que se obtiene “tercios”.

Además dependiendo del producto a elaborar se realiza el corte secundario o deshuese de los cortes anatómicos, obtenidos del corte primario. Debido al tamaño chico de las piezas se realiza con bisturí,

obteniendo de cada tercio: pulpa de jamón, pulpa de paleta y recorte de conejo 90/10.

La distribución de los cortes respecto al peso de la canal destinada a los diferentes productos cárnicos procesados es el siguiente: el 50% de las patas disponibles se destinan para la elaboración de jamón crudo de conejo. El resto se deshuesa para producir fiambre cocido de conejo, completando la fórmula cárnica con un porcentaje de pulpa de paleta.

Para el chorizo fresco de conejo y cerdo se emplea la pulpa sobrante del deshuesado y todos los recortes de conejo, junto con un 30% de grasa de cerdo (tocino).

Elaboración de jamón crudo de conejo

Se utilizaron jamones con hueso y los siguientes aditivos: sal entrefina (7,0% – 10,0%), azúcar blanca, nitrito de sodio (máx. 0,015%) y nitrato de sodio (máx. 0,030%) (conservadores), eritorbato de sodio (q.s.) (fijador de color) y pimentón dulce (1,5% - 2,5%).

La pata de conejo con hueso obtenida de la despostada se estabilizó hasta alcanzar la temperatura de 5°C en el centro del producto. Para el salado se dosifica sal de cura por frotado manual durante 5 minutos de ambas caras del jamón con hueso, según la fórmula de aditivos y especias.

Las piezas se apilan en contenedores y se llevan a reposo en heladera a 4°C durante 3 días. Transcurrido este tiempo se lava superficialmente la pieza por chorro de agua para retirar la sal de cura excedente. El postsalado se realiza en heladera a 4°C durante 4 días.

La etapa de secado se produce en secadero automático con control de temperatura entre 15°C y 20°C y humedad entre 80-90% HR, durante 2 semanas.

Una vez finalizada la elaboración, los jamones se envasan al vacío en envasadora marca Multivac en bolsa de vacío de 200 x 300 mm y 58 micrones de espesor.

Elaboración de Fiambre cocido de conejo

Se emplea pulpa de jamón de conejo deshuesada (72%) y pulpa de paleta de conejo deshuesada (28%) con los aditivos: sal entrefina, azúcar blanca, nitrito de sodio (conservador), nitrato de sodio (conservador), tripolifosfato de sodio (emulsionante), eritorbato de sodio (fijador de color), carragenina, leche entera en polvo, suero de queso, fécula de papa y texturizado de soja (extensor), saborizante de jamón cocido y carmín de cochinilla (colorante).

La elaboración se inicia estabilizando la temperatura de la pulpa de jamón y pulpa de paleta, en heladera entre 2 y 4°C durante 24 horas. Se formula la salmuera colocando cada ingrediente en un batidor en el orden establecido.

La pulpa de paleta se emulsiona junto con la salmuera en una relación 100% en peso, en una

procesadora doméstica manual, a alta velocidad durante 4 minutos.

A la pulpa de jamón se le adiciona la salmuera por inyección manual con jeringa y aguja, en una relación peso de salmuera/peso de carne: 0,84, según la ecuación 1.

$$\% \text{ Inyección} = (P_f - P_i) / P_i * 100 \quad (1)$$

Donde:

P_i = Peso inicial de la pulpa de jamón

P_f = Peso final de la pulpa de jamón inyectada con la salmuera

Luego la pulpa de jamón inyectada en pequeños trozos se corta y mezcla con la emulsión en una masajeadora. Al cabo de 4 horas se coloca la pasta en una bolsa, se realiza la extracción del aire en una envasadora al vacío. Se moldea en un pequeño molde de acero inoxidable, especialmente diseñado para las dimensiones del fiambre cocido (60x50x100 mm), provisto de una tapa móvil ajustable para presionar la pasta y favorecer la liga en el producto final. Los moldeados se cocinan por inmersión en agua a 85°C en un baño termostatzado, hasta alcanzar 71°C en el centro, y debe mantenerse esta temperatura durante 3 minutos. El tiempo total de la cocción es de aproximadamente 160 minutos. Luego se incorpora agua fría, para bajar la temperatura del jamón, por lo menos a 40°C, y se lleva a refrigeración a 7°C. Una vez frío se desmolda el producto y se almacena hasta su consumo.

Elaboración de chorizo fresco de conejo y cerdo

Se emplea recorte de carne de conejo (70%) y grasa de cerdo (tocino) (30%).

El producto se formula utilizando sal entrefina (1,5%–2,0%), azúcar blanca (0,5%), nitrato de sodio (máx. 0,03%) (conservador), tripolifosfato de sodio (máx. 0,5%) (estabilizante), eritorbato de sodio (q.s.) (fijador de color), fécula de trigo (máx. 5%) y texturizado de soja (máx. 2%) (extensor), carmín de cochinilla (máx. 0,01%) (colorante) y especias, ají molido, orégano y pimienta blanca molida (total 0,15%).

La carne y tocino mantenidos a 4°C en una relación 70/30, se cubetea manualmente con cuchillo en piezas de aproximadamente 5x5x5 mm. Durante el mezclado se agregan los aditivos y especias según la fórmula de las materias primas cárnicas. Y tanto el mezclado como el amasado posterior, se realizan de forma manual.

Para el embutido y atado manual se utiliza tripa natural de cerdo calibre 38/40 (chinesca), previamente sumergida en agua a 40°C durante 30 minutos.

Los embutidos frescos elaborados se almacenan a 5°C hasta su consumo.

Se tiene especial consideración en las concentraciones de sodio en los distintos productos, debido a la creciente preocupación de los

consumidores. En términos del contenido intrínseco en la carne de conejo, puede variar de 37 a 47 mg / 100 g (Dalle Zotte y Szendrő 2011). Todas las formulaciones propuestas se adecuan a valores normales utilizados en productos cárnicos (300 a 800 mg de sodio/100 gramos de producto).

Análisis sensorial

La evaluación sensorial preliminar se realiza por 10 jueces semi-entrenados, utilizando una prueba analítica discriminativa de diferenciación por comparación de pares. Se emplean muestras comerciales de: jamón crudo de cerdo con 6 meses de elaboración, fiambre cocido con 90% de inyección y chorizo fresco de cerdo cocido.

Los fiambres se presentan feteados y los chorizos en rodajas de aproximadamente 1 cm de espesor.

En esta etapa del desarrollo de productos, se espera identificar diferencias sobre las características predeterminadas (Hernández Alarcón, 2005).

Los atributos que se seleccionaron se muestran en la tabla 1. Y las preguntas a responder fueron, según el producto:

Jamón crudo

¿Cual muestra presenta mejor color rojo de un producto curado?

¿Cual muestra presenta mejor masticabilidad?

¿Cual muestra es menos salada?

Fiambre cocido

¿Cual muestra presenta mejor color rojo de un producto cocido?

¿Cual muestra presenta mejor "ligado"?

¿Cual muestra es menos salada?

Chorizo fresco cocido

¿Cual muestra presenta menor cantidad y mejor distribución de grasa?

¿Cual muestra presenta mejor jugosidad?

¿Cual muestra es menos salada?

Tabla 1. Atributo seleccionado por producto.

Atributo	Productos		
	J. crudo	F. cocido	Chorizo
Color	x	X	
Masticabilidad	X		
Salado	x	X	X
Liga		X	
Cantidad y distribución de grasa			X
Jugosidad			X

3. Resultados y Discusión

Despostada primaria de la canal

En la figura 1 se muestra la despostada primaria de la que se ha separado pulmón, riñones y grasa perirrenal (figura 2)



Figura 1. Canal de conejo sin pulmón, riñones y grasa perirrenal.



Figura 2. Pulmón, riñones y grasa perirrenal.

Al realizar la operación se observa una merma asociada a una pérdida de peso por almacenamiento en frío y un desperdicio que se relaciona con pequeños trozos de carne que se pierden en los procesos productivos.

En la tabla 2 se reseña el rendimiento del corte primario.

Los pulmones, riñones, hígado y grasa (por su mala calidad) no se emplean en la formulación de los productos.

Tabla 2. Rendimiento del corte primario.

Producto	Porcentaje (%)
Cuarto trasero	26,48
Cuarto delantero	12,51
Centro	51,66
Pulmón	4,34

Riñón	0,98
Grasa de riñón	3,46
Hígado	0,57
DESPERDICIO	0,00
TOTALES	100,00
MERMA	0,00
TOTALES	100,00

Despostada secundaria

En la despostada secundaria se realiza el deshuesado de los cortes primarios. (Figura 3).



Figura 3. Deshuesado de panceta de conejo.

En la tabla 3 se muestran los porcentajes de cada fracción según la zona de la canal que se deshuese. Estos datos corresponden a la canal sin cabeza.

En la tabla 4 se reseña que corte y porcentaje de la canal se destina a los productos seleccionados.

Tabla 3. Rendimientos del corte secundario.

DESHUESADO CUARTO TRASERO	PORCENTAJE (%)
Pulpa de jamón sin garrón	79,27
Garrón	2,34
Hueso	18,39
DESPERDICIO	0,00
TOTALES	100,00
MERMA	0,00
TOTALES	100,00
DESHUESADO CUARTO DELANTERO	
Pulpa de paleta	60,69
Hueso	30,34
Grasa	8,97
DESPERDICIO	0,00
TOTALES	100,00
MERMA	0,00
TOTALES	100,00

TOTALES	100,00
DESHUESADO DEL CENTRO	
Panceta con hueso	52,31
Recorte de carne 90/10	25,06
Hueso (espinazo)	21,63
DESPERDICIO	1,00
TOTALES	100,00
MERMA	0,00
TOTALES	100,00

Durante la elaboración de fiambre cocido de conejo, fue necesario separar el garrón de la pulpa de jamón, ya que tiene un tendón interno que provocaría un problema para el feteado y/o mordida del fiambre.

Tabla 4. Distribución de la materia prima cárnica según producto.

CORTE	CUARTO	JAMÓN CRUDO (%)
Jamón con hueso	Trasero	13,24
TOTAL		13,24
CORTE	CUARTO	FIAMBRE COCIDO (%)
Pulpa de jamón	Trasero	10,49
Pulpa de paleta	Delantero	4,20
TOTAL		14,69
CORTE	CUARTO	CHORIZO FRESCO (%)
Garrón de jamón	Trasero	0,31
Pulpa de paleta	Delantero	3,39
Recorte 90/10	Centro	12,95
Recorte 90/10	Centro (panceta)	44,7
TOTAL		61,37

Con respecto a la materia prima de conejo el proceso de elaboración del jamón crudo presenta merma (pérdida de peso), mientras que los otros productos generan una ganancia de peso (rendimiento). Esto se refleja en la tabla 5.

Tabla 5. Relación de producto final respecto a la materia prima.

PRODUCTO	MERMA (%)	REND. (%)	PESO FINAL (%)
Jamón crudo	35,00		65,00
Pata con hueso			
Fiambre cocido		88,50	188,50
Pulpa jamón			
Pulpa paleta			
Chorizo fresco		12,87	112,87
Recorte 90/10			

Jamón crudo de conejo

De todos los productos cárnicos elaborados el jamón crudo reúne las características de un producto premium.

El punto crítico de control en la elaboración de salazones crudas está definida por la sumatoria de los parámetros: porcentaje mínimo de sal, porcentaje de nitrito de sodio y actividad acuosa, que se relaciona con una merma típica del producto, a lo largo de los días de elaboración, del 35% (Tabla 6).

Tabla 6. Mermas durante el proceso.

ETAPA	DÍAS ETAPA	DÍAS PROCESO	MERMA TOTAL (%)
Desalado	3	3	12,56
Secado	14	21	34,99

La figura 4 muestra algunas etapas de la elaboración del jamón crudo de conejo: materia prima, aditivos y especias (A), frotado manual (B), merma de postsalado (C) y secado (D).

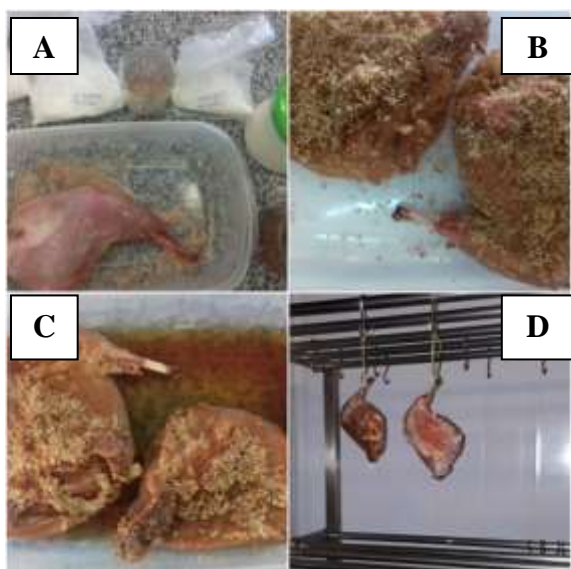


Figura 4. Etapas de elaboración jamón crudo de conejo.

Comparando las etapas de elaboración del jamón crudo de conejo frente al de cerdo la mayor diferencia está en su tamaño, que afectará principalmente el salado y secado.

La clasificación de la materia prima por peso tiene como objetivo estandarizar el proceso.

En el proceso de salado industrial, se toma en consideración el peso de la pata de cerdo que oscila entre 9 y 13 kg por pieza; y se fija un porcentaje del 5%, de modo de establecer rangos que aseguren un correcto salado.

Por ello se tomó para el caso de pata de conejo la misma relación, es decir 0,300 kg +/- (5%), lo que corresponde a un rango entre 0,285 y 0,315 kg y cuando las piezas presentaron pesos fuera de esos valores, se debió adecuar la dosis de sal.

El salado de jamones crudos de cerdo puede realizarse por vía seco en salmuera. En el primero se obtiene una mayor deshidratación osmótica, mientras que en el segundo hay un menor consumo de sal (Amau *et al.*, 1998).

El salado en vía seca puede realizarse utilizando dos formas:

- 1) Salado de los jamones recubiertos de sal.
- 2) Salado mediante una cantidad de sal determinada por cada kg de jamón.

Con piezas de carne muy pequeñas, se corre el riesgo del salado excesivo, por lo que la opción 2 asegura un producto terminado con gusto salado similar a los jamones de cerdo.

La otra variable a considerar durante el salado son los días hasta el lavado de la pieza, para el cerdo es 1 día de salado por kilo de peso de materia prima más 1 o 2 días de seguridad (Amau *et al.*, 1995).

Las patas de conejo de aproximadamente 0,300 kg se mantuvieron 3 días en sal, resultando la relación de 1 día de sal por cada 0,1 kg de peso del conejo

Durante el salado hay una deshidratación ocasionada por la sal, pero durante las fases de reposo y secado se produce la mayor pérdida de agua (Arнау *et al.*, 1987).

En la etapa de reposo se logra la distribución de la sal en el jamón, que se relaciona directamente con el tamaño de la pieza. Para el cerdo, el tiempo es de 50/60 días y en el caso del producto de conejo desarrollado, solo de 4 días.

Para lograr la estabilización del producto se realiza el secado hasta alcanzar una merma final de 35%.

En esta etapa, son de vital importancia, las variables temperatura y humedad relativa del aire del secadero. Para el jamón de cerdo por su tamaño y para evitar el encostrado, el secado se realiza en varias etapas donde se aumenta la temperatura desde 12°C hasta llegar a los 22°C y se disminuye la humedad relativa desde 90% a 60%.

Los ensayos realizados para el secado del jamón crudo del conejo, permitieron seleccionar el secado en una sola etapa (15/20°C y 80/90% HR), y con esto se logra evitar el excesivo secado superficial de la pieza.

Análisis sensorial

En la tabla 7 se observa que el jamón crudo de conejo es menos salado que el de cerdo, con un 95% de confianza.

Tabla 7. Resultado de los atributos seleccionado para el jamón crudo.

Atributo	Jamón crudo	
	J. conejo	Resultado
Mejor color	3/10	Sin diferencia significativa
Mejor masticabilidad	7/10	Sin diferencia significativa

Menor salado	9/10	Diferencia significativa
--------------	------	--------------------------

El salado en los productos curados ejerce una notable influencia en el color, por el mayor ingreso de sal con aditivos nitrificantes y en la textura, en su característica mecánica secundaria de masticabilidad, que sin embargo no evidenciaron diferencia significativa en este caso.

En relación al color también hay que tener en cuenta, el color menos intenso de la carne de conejo fresca frente a la de cerdo (Figura 5)



Figura 5. Jamón crudo de conejo feteado.

Fiambre cocido de conejo

Se observa en la tabla 8 la ganancia de peso entre las pulpas, asociada a la formulación cárnica y el porcentaje de inyección de cada corte.

Desde el punto de vista de los rendimientos, el producto paleta de conejo, es evidentemente el más rentable. La inyección de la carne de conejo mejora los principales defectos sensoriales que son su mínima jugosidad y la fibrosidad (Dalle Zotte, 2002) y aumenta el rendimiento en producto final.

Sin embargo, en el marco del proyecto Procodas, se busca la diversificación en los productos y precios. La inyección de los jamones permite observar en la feta, trozos enteros de músculo, que resultan evidentemente más atractivos para el consumidor.

Tabla 8. Porcentaje de inyección de cada músculo y producto terminado

PULPA	PESO (Kg)	% INY.	PESO SALMUERA (Kg)	PESO TOTAL (Kg)
Jamón	72	83,78	60,32	132,32
Paleta	28	100,0	28,00	56,00
TOTAL	100		88,32	188,32

En la figura 6 se muestran la preparación de la salmuera, la inyección de la pulpa de jamón y la emulsión de la carne de paleta; además el envasado de la pasta luego del masajeo.



Figura 6. Primeras etapas de elaboración de fiambre cocido de conejo previa cocción

Las etapas siguientes (moldeado y cocción) así como el producto terminado se muestran en la Figura 7.



Figura 7. Últimas etapas de elaboración del fiambre cocido de conejo.

La marinación mejora la capacidad de la carne de conejo para retener agua y mejora la textura (Pettracci *et al.*, 2012). También estos autores propusieron el uso de bicarbonato de sodio como una alternativa a la utilización de los fosfatos para abordar las tendencias de etiqueta natural y limpia. Lo que se espera probar en ensayos posteriores. Dos de las características más importantes en la calidad de los productos cocidos son el ligado muscular y la retención de agua.

El componente muscular responsable de estas dos características son las proteínas solubles (miofibrilares) de la carne.

El exudado se produce a través de un efecto químico y/o de un efecto mecánico. En el primer caso, la salmuera inyectada está compuesta de sal y polifosfatos cuya misión es fundamentalmente la de solubilizar y relajar las proteínas miofibrilares de la carne. El efecto mecánico a través del masaje, se rompen las células y las membranas celulares se hacen más permeables, favoreciendo la distribución y absorción de la salmuera.

El masaje favorece la extracción y solubilización de las proteínas, pero este efecto varía en función de la fuerza iónica del medio y de la presencia o no de polifosfatos.

En la inyección de los jamones de cerdo para aumentar la superficie de extracción de proteínas musculares (miofibrilares) se realizan múltiples cortes sobre la pulpa (tenderización), no necesaria para el conejo debido a su mayor relación de superficie y peso.

En cambio el proceso de extracción de proteína de la pulpa de paleta se realiza principalmente por el efecto mecánico, al formar una emulsión con la salmuera.

Uno de los objetivos perseguidos por la fase de maduración es el sabor que pueden presentar un problema en los productos de baja inyección (cerca del 20%) si el tiempo de proceso es acelerado y no alcanza a distribuirse la salmuera homogéneamente en todo el músculo, inconveniente no presentado con el fiambre cocido de conejo inyectado al 80%.

La combinación entre masaje y maduración dará la extracción y solubilización de proteínas deseada. El tiempo de maduración generalmente estandarizado para el jamón de cerdo es de 24 horas, con el cual se consigue la extracción de proteína y distribución del color. Por el menor tamaño de la carne de conejo, la salmuera se distribuirá más rápida y uniformemente favoreciendo la aceleración de las reacciones del color, pudiéndose reducir el tiempo a 4 horas.

Encontramos diferentes tipos de embutición manual, en función de si se trata de un producto, mermado, cook-in o ahumado.

El proceso de cocción elegido es en el envase definitivo (productos Merma Cero o "Cook-in-Ham") que evita la liberación de jugos obteniendo mejores rendimientos durante la cocción.

La otra ventaja que aporta este sistema es una mejor conservación del producto final al evitar reenvasar el producto una vez cocido.

Dentro de las variantes de cocción: temperatura decreciente, cocción a temperatura creciente, en sus 2 variantes (cocción escalonada y cocción Delta T) y temperatura constante, donde la temperatura del agua se mantiene a 85°C durante todo el tratamiento térmico.

Las variables a tener en cuenta durante la cocción es que se quemó el producto por comenzar el proceso a una alta temperatura (decreciente). La cocción creciente tiene el inconveniente del prolongado tiempo operativo, arrojando los mejores resultados.

La selección de método de masaje, proceso de cocción cooking y temperatura constante se evidenciaron como una excelente combinación para la obtención del fiambre cocido de cerdo.

Análisis sensorial

Según la tabla 9 no se observaron diferencias significativas en la impresión visual de uniformidad de color ni el ligado de la feta.

Tabla 9. Resultado de los atributos seleccionado para el fiambre cocido.

Atributo	Jamón crudo	
	J. conejo	Resultado
Mejor color	7/10	Sin diferencia significativa
Mejor liga	7/10	Sin diferencia significativa
Menor Salado	9/10	Diferencia significativa

En los productos cocidos en comparación a los curados el uso de colorantes permite obtener uniformidad de color en la feta del fiambre (Figura 8).

El fiambre de conejo presentó menor salado debido a la relación del diseño de la salmuera y su porcentaje de inyección.



Figura 8. Fiambre cocido de conejo feteado.

Chorizo fresco de conejo y cerdo

En este producto desarrollado es indispensable cumplir con los requisitos del Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control para la elaboración de embutidos frescos, manteniendo la temperatura de las materias primas (recortes de conejo y tocino de cerdo) por debajo de los 5°C.



Figura 9. Etapas de elaboración de chorizo fresco de conejo y cerdo

En la figura 9 se muestran algunas etapas de la elaboración de chorizo fresco de conejo.

La carne de conejo es más magra en comparación a otros tipos de carnes (Dalle Zotte y Szendrő 2011). Además la poca grasa presente es de mala calidad desde el punto de vista de la composición y propiedades físico-químicas. Por lo que la incorporación de materia grasa de cerdo (tocino) que tiene mayor punto de fusión, aportó los atributos de palatabilidad en boca y aspecto visual que se esperaba en el producto final.

La proporción de carne y tocino elegida permitió la obtención de chorizo con una distribución de grasa al corte, muy atractiva

La opción para la escuela de utilizar los recortes de carne de conejo para elaborar chorizo fresco es mejor que la fabricación de productos finamente molidos (salchicha tipo viena) que plantean las dificultades de lograr buena apariencia, sabor, capacidad de retención de agua y textura (aumento de firmeza) (Weiss *et al.*, 2010) con productos de carne de conejo. Por otro lado, se debe disponer de tecnología más compleja, de la que actualmente no se cuenta.

Análisis sensorial

Tabla 10. Resultado de los atributos seleccionado para el chorizo cocido.

Atributo	Jamón crudo	
	J. conejo	Resultado
Menor cantidad y mejor distribución grasa	9/10	Sin diferencia significativa
Mejor jugosidad	7/10	Sin diferencia significativa
Menor salado	9/10	Diferencia significativa

En la tabla 10 se muestra que el chorizo fresco de conejo y cerdo cocido arrojó una distribución de la grasa en forma uniforme, similar al embutido de cerdo, pero en menor cantidad, no encontrando diferencias significativas en la jugosidad ni el salado (Figura 10). Sin embargo, las dimensiones de los cubos seleccionados, que son las se utilizan normalmente en productos de cerdo, podrían disminuirse para una mejor apariencia en las piezas más pequeñas de los chorizos de conejo.



Figura 10. Chorizo fresco de conejo y cerdo cocido.

4. Conclusiones

Es técnicamente posible la elaboración de los productos seleccionados de conejo: jamón crudo de conejo, fiambre cocido de conejo y chorizo fresco de conejo y cerdo.

El producto Premium, jamón crudo de conejo, constituye una excelente alternativa para valorizar la carne y aunque la merma del jamón crudo es alta, se compensaría con el valor de venta.

De los productos cocidos, el fiambre logra los mayores rendimientos, y podría constituirse en la alternativa más rentable.

El chorizo fresco de conejo y tocino de cerdo elaborado, permite la utilización de todos los recortes de carne obtenidos de la despostada, logrando la utilización integral de la canal.

Se brinda a una escuela agro-técnica la alternativa de agregar valor a su producción de carne, con productos elaborados y logrando consecuentemente la extensión de su vida útil y un aprovechamiento integral de la crianza de conejo.

Este trabajo permitió demostrar la factibilidad técnica de la elaboración de diferentes productos y en un futuro a través de un análisis económico, se definirá la combinación óptima de producción de cada uno de ellos, para maximizar los beneficios.

5. Referencias

Arnau J.; Hugas M.; Monfort J. M. (1987). “*El jamón curado: aspectos técnicos*”. Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentaries. Barcelona, España.

Arnau, J. y Monfort, J. M. (1998). *“El jamón curado: Tecnología y análisis de consumo”*. Estrategias Alimentarias, S.L. Madrid, España

Arnau, J.; Guerrero, L.; Casademont, G. and Gou, P. (1995). *“Physical and chemical changes in different zones of normal and PSE dry-cured ham during processing”*. Food Chem. 52: 63-69.

Cury, K.; Martínez, A.; Aguas, Y.; Olivero, R. (2011). *“Caracterización de carne de conejo y producción de salchicha”*. Rev. Colombiana. Cienc. Anim. 3 (2): 269-282.

Dalle Zotte A. 2002. *“Perception of rabbit meat quality and major factors influencing the rabbit carcass and meat quality”*. Livest. Prod. Sci., 75: 11-32.

Dalle Zotte, A.; Szendrő, Z. (2011). *“The role of rabbit meat as functional food”*. Meat Science 88 319-331.

Hernández Alarcón E. (2005). *“Evaluación sensorial”*. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD). Centro Nacional de Medios para el Aprendizaje. Bogotá, Colombia.

Autor desconocido. Sin fecha. Título. Ministerio de Agroindustria de la Nación. Disponible en: https://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/ss_ganaderia/index.php. Fecha de captura: 06/12/17

Código Alimentario Argentino. Disponible en: <http://www.anmat.gov.ar>. Fecha de captura: 02/11/17

INCAP Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá. Disponible en: <http://www.incap.int> Fecha de captura: 03/11/17

Tabla composición de los alimentos Uruguay. Disponible en <https://deymerg.files.wordpress.com/2013/07/tabla-de-composicic3b3>. Fecha de captura: 03/11/17

Li, Z. (2013). *“Development of meat product industry in China”*. Meat Industry, 384 (4), 9-11.

Liste, G.; Villarroel, M.; Chacón G.; Sañudo C.; Olleta J. L.; García Belenguer S.; Alierta S.; María G. A. (2009). *“Effect of lairage duration on rabbit welfare and meat quality”*. MeatScience 82:71-76

Pérez Jiménez, F; et al. (2006) *“Consejos para ayudar a controlar el colesterol con una alimentación saludable”*. Cli Invest Arterioscl. ;18 (3): 104-10

Petracci M.; Rimini S.; Biguzzi G.; Cavani C. (2011). *“The use of marination to provide added-value rabbit meat”*. In Proc.: Giornate di Coniglicoltura ASIC, 8-9 April, 2011, Forlì, Italy, 185-188.

Weicai Zeng; Wenting Wen; Yue Deng; Yuanyuan Tian; Honghu Sun; Qun Sun. (2016). *“Chinese ethnic meat products: Continuity and development”*. Meat Science, 120: 37–46.

Weiss J.; Gibis M.; Schuh V.; Salminen H. (2010). *“Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products”*. Meat Sci., 86: 196-213.

14TCA. Estudio de la contaminación microbiológica de alimentos manufacturados en casas de comidas de la ciudad de La Rioja

Study of the microbiological contamination of food manufactured in food stores in the city of La Rioja

Sergio M. Moreno¹, Viviana N. Maldonado¹, Gerardo A. Calvo; Gisela M. Cerezo; Maria A. Molina Torres¹

1. Instituto de Tecnología Agroindustrial (ITA) – SECyT – UNLaR 5300 La Rioja – Argentina . email: sergiomanuelmoreno@arnet.com.ar

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el grado de contaminación de alimentos manufacturados en casas de comidas y determinar el impacto de las enfermedades de transmisión alimentarias en la ciudad de La Rioja.

La población muestreada quedó constituida por 15 casas de comida de la ciudad de La Rioja. Para su selección se dividió la ciudad Capital en 5 zonas (Centro, Norte, Sur, Este y Oeste) y de cada una se seleccionaron 3 casas de comidas.

La muestra se constituyó por 3 platos distintos elaborados en cada casa de comida según menú, eligiendo preparados con productos cárnicos e hidratos de carbono en distintos métodos de cocción: fritos, hervidos y al horno.

En la determinación de Coliformes Totales, se destaca que los alimentos preparados hervidos fueron los que presentaron mayor porcentaje (86%) de valores no aceptables, > 3 NMP/25 g (Numero Mas Probable); seguidos por los alimentos fritos (53%) y en último lugar se ubicaron los alimentos asados (40%).

La mayor frecuencia en el aumento de estos valores de contaminación se debe a las medidas higiénicas deficientes en la manipulación de los alimentos, al uso infrecuente de sistemas que aseguren la inocuidad y seguridad de los alimentos, y a las fallas en los sistemas de control bromatológico gubernamentales.

Palabras clave: comidas, contaminación microbiológica, rotiserías.

Abstract

The objective of this paper is to assess the degree of contamination of food manufactured in food houses and determine the impact of foodborne diseases in the city of La Rioja.

The sampled population was constituted by 15 (fifteen) Food Houses in the city of La Rioja. For its selection, the Capital City was divided into 5 zones (Center, North, South, East and West) and 3 (three) food centers were selected from each one.

The sample was constituted by 3 (three) different dishes prepared in each house of food according to the menu, choosing preparations with meat products and carbohydrates in different cooking methods (fried, boiled, oven).

In the determination of Total Coliforms, it is highlighted that boiled prepared foods were those that presented the highest percentage (86%) of unacceptable values, > 3 NMP / 25 g (Most Probable Number); followed by fried foods (53%) and last, roasted foods (40%).

The greater frequency in the increase of these measurements may be due to poor hygienic measures in the handling of food, the infrequent use of quality control systems and those that ensure the safety and security of food, the failures in the systems of governmental bromatological control that should prevent this type of food from reaching the consumer.

Keywords: food, microbiological contamination, rotisseries.

1. Introducción

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) constituyen un importante problema de Salud Pública debido al incremento en su

presentación, el surgimiento de nuevas formas de transmisión, la aparición de grupos poblacionales vulnerables, el aumento de la resistencia de los patógenos a los compuestos antimicrobianos y el impacto socioeconómico que ocasionan. La detección y la investigación de los brotes constituyen uno de sus principales retos.

Los síntomas de las ETAs varían de acuerdo al tipo de contaminación, como así también a la cantidad del alimento consumido. Los signos más comunes son diarreas y vómitos, pero también se pueden presentar: dolores abdominales, dolor de cabeza, fiebre, síntomas neurológicos, visión doble, ojos hinchados, dificultades renales, entre otras. Entre 1993 y 2002, ocurrieron 152 brotes de Enfermedades Transmitidas por Alimentos en Argentina que ocasionaron 3309 casos y 4 muertes. Mientras que en los demás países de América Latina y el Caribe se produjeron, durante el mismo período, 6324 brotes de ETA, que provocaron 228.579 casos y 314 muertes. Estos son los brotes que fueron notificados al Sistema Regional de Vigilancia Epidemiológica de las ETA (SIRVETA), desarrollado por el Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis (PANALIMENTOS) y que se encuentra en fase de consolidación respecto a la detección y registro de brotes y casos.

La percepción de los riesgos para la salud está enraizada en los distintos entornos económicos, sociales y culturales (OMS, 2002).

La información acerca de la magnitud del riesgo es importante para que la gente tome conciencia de riesgos que jamás ha escuchado, mientras que la información acerca de la susceptibilidad personal es importante en la transición que va de la conciencia a la decisión de actuar.(CEPIS; OPS, OMS, 2003).

La ciudad de La Rioja ha tenido un aumento demográfico importante en los últimos 10 años, lo que llevo a la instalación de casas de comida tales como rotiserías, en los distintos barrios para satisfacer la demanda creciente de alimentos elaborados, algunas con menú fijo y otras con oferta por kilogramo. Los hábitos de consumo están muy relacionados con el estilo de vida y la demanda de comida ya elaborada es mucho mayor en el horario de almuerzo.

Como hipótesis del proyecto se planteó que el grado de contaminación microbiológica de alimentos manufacturados en casas de comidas tiene un alto impacto en las enfermedades de transmisión alimentaria de los habitantes de la ciudad de La Rioja.

El objetivo general fue evaluar el grado de contaminación de alimentos manufacturados en casas de comidas y determinar el impacto de las enfermedades de transmisión alimentarias en la ciudad de La Rioja.

Los objetivos específicos planteados fueron, a) evaluar la contaminación microbiológica de comidas manufacturadas que se expenden en casas de comidas de la ciudad de La Rioja; b) indagar sobre hábitos de consumo que posee la población de la ciudad de La Rioja con respecto a alimentos manufacturados; c) formular las bases de un modelo educativo para cambiar hábitos o conductas en la elaboración de alimentos.

2. Materiales y métodos

Se relevaron establecimientos elaboradores de alimentos manufacturados de distintos barrios de la ciudad de La Rioja. Las Unidades de Análisis y de información fueron

- Casas de comida: Rotiserías y comedores de la ciudad de La Rioja.
- Comida elaborada expendida por porción.

La población muestreada quedó constituida por 15 (quince) casas de comida de la ciudad de La Rioja. Para su selección se dividió la ciudad Capital en 5 zonas (Centro, Norte, Sur, Este y Oeste) y de cada una se seleccionaron 3 (tres) casas de comidas, teniendo en cuenta de que las mismas elaboren todos los alimentos a muestrear.

La muestra se constituyó por 3 (tres) platos distintos elaborados en cada casa de comida según menú eligiendo preparados con productos cárnicos e hidratos de carbono en distintos métodos de cocción (fritos, hervidos, horno).

Para el relevamiento, el muestreo, la preparación de la muestra y el análisis se aplicó la Normativa siguiente:

- Código Alimentario Argentino. CAA Art. 156 tris.
- Guía de inspección de A.N.M.A.T. (Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica). República Argentina.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods)

Las variables medidas a través de análisis microbiológico fueron:

- Coliformes totales: número más probable (NMP). Medio de cultivo utilizado: Agar MacConkey
- Coliformes fecales: número más probable (NMP). Agar MacConkey
- Aerobios mesófilos: recuento en placa. Agar Plate Count (APC).
- *E. coli*: ICMSF.
- *Salmonella*: Siembra en placa de agar selectivo. ICMSF. Caldo Selenito Cistina, Caldo Rappaport.

3. Resultados y Discusión

Casas de comidas seleccionadas

La Tabla N° 1 muestra las diferentes casas de comidas seleccionadas para la extracción de muestra. Se designó un código a cada una con el objetivo de respetar la confidencialidad pactada con los establecimientos. De cada casa se tomaron tres muestras que representan alimentos hervidos, fritos y asados.

Tabla N° 1: Muestras obtenidas por zonas

Localiz.	Código	Muestra
CENTRO	CC-001	Ravioles (Con salsa blanca),milanesa de pollo; carne asada
CENTRO	CC-002	Ravioles (con salsa roja), milanesa de pollo, carne asada, puré
CENTRO	CC-003	Ravioles (sin salsa),milanesa de carne; carne asada
ESTE	CE-004	Tallarines (con salsa roja); milanesa de pollo; carne asada
NORTE	CN-005	Ravioles(sin salsa),milanesa de pollo; carne asada
SUR	CS-006	Tallarines (sin salsa); milanesa de carne; carne asada.
OESTE	CO-007	Ravioles (sin salsa); milanesa de pollo; carne asada.
SUR	CS-008	Tallarines (con salsa roja); milanesa de carne; carne asada
ESTE	CE-009	Ravioles (con salsa blanca), milanesa de carne, carne asada (costillas)
SUR	CS-010	Tallarines (con salsa roja), milanesa de carne, pollo a la plancha
OESTE	CO-011	Ravioles (con salsa roja), milanesa de pollo, carne asada (costilla)
CENTRO	CC-012	Ravioles (con salsa y queso), Milanesa de carne, Pollo asado
NORTE	CN-013	Ravioles (con salsa blanca), milanesa de carne, carne asada (costillas)
OESTE	CO-014	Ravioles (con salsa), Milanesa de carne, carne asada
NORTE	CN-015	Lasaña (con salsa roja), Milanesa de Carne, Pollo asado

En la Tabla N° 2 se detallan los resultados analíticos obtenidos para las distintas determinaciones.

Tabla N° 2: Resultados generales

Zona	Plato	A	B	C	D	E	F
ESTE	M1-Hervido	> 16	0	0	0	0	0
ESTE	M2-Frito	0	0	0	0	0	0
ESTE	M3-Asado	2,2	7	0	0	0	0
ESTE	M1-Hervido	> 16	0	> 16	0	0	0

ESTE	M2-Frito	> 16	0	< 2,2	0	0	0
ESTE	M3-Asado	< 2,2	0	0	0	0	0
ESTE	M1-Hervido	< 2,2	0	0	0	0	0
ESTE	M2-Frito	< 2,2	0	0	0	0	0
ESTE	M3-Asado	< 2,2	0	0	0	0	0
OESTE	M1-Hervido	2,2	0	< 2,2	0	0	0
OESTE	M2-Frito	< 2,2	0	0	0	0	0
OESTE	M3-Asado	< 2,2	0	0	0	0	0
OESTE	M1-Hervido	> 16	0	> 16	1	1	0
OESTE	M2-Frito	2,2	0	2,2	0	0	0
OESTE	M3-Asado	2,2	0	2,2	0	0	0
OESTE	M1-Hervido	> 16	0	> 16	0	0	0
OESTE	M2-Frito	< 2,2	0	0	0	0	0
OESTE	M3-Asado	< 2,2	0	0	0	0	0
NORTE	M1-Hervido	> 16	0	> 16	0	0	0
NORTE	M2-Frito	> 16	1	> 16	0	0	0
NORTE	M3-Asado	> 16	1	> 16	1	1	0
NORTE	M1-Hervido	> 16	0	-	0	0	0
NORTE	M2-Frito	> 16	0	-	0	0	0
NORTE	M3-Asado	> 16	0	-	0	0	0
NORTE	M1-Hervido	> 16	0	16	0	0	0
NORTE	M2-Frito	< 2,2	0	0	0	0	0
NORTE	M3-Asado	> 16	0	< 2,2	0	0	0
SUR	M1-Hervido	> 16	0	> 16	0	0	0
SUR	M2-Frito	2,2	0	2,2	0	0	0
SUR	M3-Asado	< 2,2	0	0	0	0	0
SUR	M1-Hervido	> 16	0	2,2	0	0	0
SUR	M2-Frito	9,2	0	2,2	0	0	0
SUR	M3-Asado	< 2,2	0	0	0	0	0
SUR	M1-Hervido	> 16	0	> 16	0	0	0
SUR	M2-Frito	> 16	0	> 16	0	-	0
SUR	M3-Asado	< 2,2	0	0	0	-	0
CENTRO	M1-Hervido	16	1	16	0	-	0
CENTRO	M2-Frito	9,2	0	9,2	0	-	0
CENTRO	M3-Asado	5,1	0	2,2	0	-	0
CENTRO	M1-Hervido	> 16	0	> 16	0	-	0
CENTRO	M2-Frito	> 16	0	2,2	0	-	0

CENTR O	M3- Asado	> 16	0	> 16	0	-	0
CENTR O	M1- Hervido	5,1	0	< 2,2	0	-	0
CENTR O	M2-Frito	5,1	0	2,2	0	-	0
CENTR O	M3- Asado	> 16	0	> 16	0	-	0

Referencia: A: Coliformes Totales. (NMP/ 25 g); B: Aerobios (UFC/ 25 g); C: Coli - Fecales (NMP/ 25 g); D: Salmonella Agar SS*; E: Salmonella Agar MC*; F: E. coli (UFC/25 g)*. *1 indica presencia; 0 indica ausencia

Coliformes Totales

El análisis de las muestras obtenidas de casas de comidas de la provincia de La Rioja, expuso que un 60% de los análisis realizados son mayores que los límites tolerables para Coliformes Totales (< 3 NMP/25 g) (Figura N°1)



Figura N° 1: Porcentaje de Coliformes Totales (NMP/25 g) en relación a los Límites Tolerables establecidos en muestras de casas de comidas

Con respecto a las tres preparaciones, los alimentos preparados hervidos fueron los que presentaron mayor porcentaje (86%) de valores no aceptables, > 3 NMP/25 g; seguidos por los alimentos fritos (53%) y en último lugar se ubican los alimentos asados (40%) (Figura N° 2). Los alimentos hervidos, a su vez, presentaron un 72% de valores mayores a 16 NMP/25 g; que corresponden a valores muy elevados en relación a los límites tolerables y que implicarían un riesgo

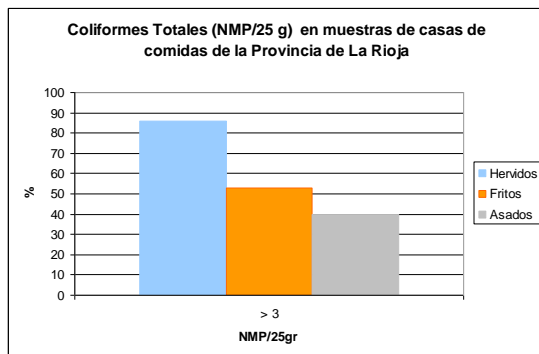


Figura N° 2: Porcentaje de Coliformes Totales (NMP/25 g) en relación a los Límites Tolerables

establecidos de alimentos hervidos, fritos y asados de muestras de casas de comidas

para la salud de los consumidores de los mismos. Se estima que la elevada actividad de agua de estos alimentos en relación a los preparados asados y fritos, podría ser la causa de su fácil contaminación y de los resultados observados. En los alimentos fritos como los alimentos asados presentaron un 33 % de muestras con valores mayores a 16 NMP/25g respectivamente. (Tabla N° 2).

Tabla N° 2: Porcentaje de Coliformes Totales (NMP/25 g) de alimentos hervidos, fritos y asados de muestras de casas de comidas

Coli. Totales (NMP/25 g)	Muestras (%)		
	Hervidos	Fritos	Asados
< 2,2	7	33	47
2,2	7	13	13
5,1	7	7	7
9,2	0	13	0
16	7	0	0
> 16	72	33	33
TOTAL	100	100	100

Coliformes Fecales

Se observó que un 64% de las muestras analizadas presentaban valores aceptables de coliformes fecales (Figura N° 3). Aproximadamente el 80% de los alimentos preparados asados y fritos se encontraron dentro de los límites permitidos; siendo los alimentos hervidos los que presentaron porcentajes menores de aceptabilidad (36%) (Tabla N° 3). En la Tabla N° 4 se observa que un 51% de los alimentos hervidos presentan valores mayores a 16 NMP/25 g, lo que indica un gran desarrollo de coliformes fecales en la mitad de las muestras de alimentos hervidos. La mayor contaminación de estos alimentos en relación a los asados y fritos, puede deberse a la mayor actividad de agua, que permite el desarrollo de microorganismos al actuar como caldos de cultivo para su desarrollo.



Figura N° 3: Porcentaje de Coliformes Fecales (NMP/25 g) en relación a los Límites Tolerables establecidos de muestras de casas de comidas

Tabla N° 3: Porcentaje de Coliformes Fecales (NMP/25 g) en relación a los Límites Tolerables establecidos en alimentos hervidos, fritos y asados de muestras de casas de comidas

Coli. Fecales (NMP/25 g)	Muestras (%)		
	Hervidos	Fritos	Asados
<3	36	79	79
>3	64	21	21
TOTAL	100	100	100

Tabla N° 4: Porcentaje de Coliformes Fecales (NMP/25 g) en alimentos hervidos, fritos y asados de muestras de casas de comidas

Coli.Fecales (NMP/25 g)	Muestras (%)		
	Hervidos	Fritos	Asados
Ausencia	14	36	58
< 2,2	14	7	7
2,2	7	36	14
5,1	0	0	0
9,2	0	7	0
16	14	0	0
> 16	51	14	21
TOTAL	100	100	100

Mesófilos Aerobios

No se encontraron valores mayores a los permitidos en el total de alimentos analizados de las casas de comidas seleccionadas. Tabla N° 5. Este resultado se esperable, considerando que las muestras fueron obtenidas inmediatamente después del tratamiento térmico debido a la cocción; colocándose para su transporte al laboratorio en recipientes estériles.

Tabla N° 5: Porcentaje de Mesófilos Aerobios (UFC/25 g) en muestras de casas de comidas

Mesófilos Aerobios (UFC/25 g)	%
< 10 ²	100
> 10 ²	0
TOTAL	100

Salmonella spp.

Un 96% de las muestras analizadas (Tabla N° 6) presentaron ausencia de *Salmonella* spp. en 25 g. El 4% restante corresponde a las muestras M1-Hervido y M3-Asado de la Tabla N°2, que desarrollaron aproximadamente 10⁶ UFC/25 g. Los alimentos fritos no evidenciaron presencia de *Salmonella* spp. (Tabla N° 7).

Tabla N° 6: Porcentaje de Salmonella spp en 25 g en relación a los Límites Tolerables establecidos de muestras de casas de comidas

Salmonella spp en 25 g	%
Presencia	4
Ausencia	96
TOTAL	100

Tabla N° 7: Porcentaje de Salmonella spp en 25 g en relación a los Límites Tolerables establecidos de alimentos hervidos, fritos y asados de muestras de casas de comida

Salmonella spp en 25 g	Muestras (%)		
	Hervidos	Fritos	Asados
Presencia	7	0	7
Ausencia	93	100	93
TOTAL	100	100	100

Podemos establecer que los porcentajes de *Salmonella* spp. encontrados son muy bajos, pero aún así es necesario aumentar los esfuerzos para reducir estos valores.

4. Conclusiones

De los alimentos que superan los límites tolerables, el 60% corresponde al recuento de Coliformes Totales, seguido el 36% al recuento de Coliformes Fecales. Los alimentos hervidos son los que evidenciaron mayores valores de contaminación, tanto en coliformes totales como en fecales. La mayor frecuencia en el aumento de estos valores de contaminación, puede deberse a

las medidas higiénicas deficientes en la manipulación de los alimentos, al uso infrecuente de sistemas de control de calidad y de aquellos que aseguren la inocuidad y seguridad de alimentos, a las fallas en los sistemas de control bromatológico gubernamentales que deberían evitar que este tipo de alimentos lleguen al consumidor.

No se obtuvieron valores mayores a los permitidos en aerobios mesófilos en el total de alimentos analizados de las casas de comidas seleccionadas.

Los porcentajes de muestras con presencia de *Salmonella* spp. encontrados son muy bajos (4%) para todos los alimentos analizados, pero aún así es necesario aumentar los esfuerzos para reducir estos valores.

El desconocimiento de sistemas que aseguren la inocuidad de los alimentos es un factor muy importante a la hora de evaluar las causas por las que se encuentran estos resultados. A partir de esto podemos concluir que es necesario aumentar la concientización y las capacitaciones a los trabajadores que manipulan alimentos a fin de disminuir el desarrollo de microorganismos patógenos que se consideran una amenaza para la salud de los consumidores (*Salmonella* spp, *Coli* Fecales, etc), principalmente de aquellos individuos encontrados en los rangos etarios más susceptibles (niños y ancianos).

5. Referencias

(1998). Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos. Centro para la Seguridad de Alimentos y Nutrición Aplicada FDA/CFSAN. *Guía para Reducir al Mínimo el Riesgo Microbiano en los Alimentos, en el Caso de Frutas y Vegetales Frescos*

Código Internacional de Prácticas Recomendado para Principios Generales de Higiene de los Alimentos CAC/RCP 1:1969, Rev.4/2003.

FAO, Roma. (2006). *Conferencia Regional FAO/OMS sobre Inocuidad de los Alimentos para las Américas y el Caribe*. Costa Rica, 2005 Informe Final.

Gomez de Diaz, RV. et al. (2009) *Determinación de microorganismos indicadores en empanadas salteñas de vendedores ambulantes* III Congreso Internacional de ciencia y Tecnología de los alimentos. Pag 291.

Groves, M R, Fowler, FJ; Couper, MP; Lpecowski, JM; Singer, E; Tourangean, R. (2004). *Survey Methodology*. Willey, pag. 424

Guzman AMS, Pederiva NB, Torres Pagano C, Eiguer T, Giménez D. (1984). *Yersinia enterocolitica: primeros aislamientos a partir de alimentos cárnicos en Argentina* Revista Argentina de Microbiología. 16:49-56.

Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, IICA. (2008). *Buenas Prácticas Agrícolas. Guía para pequeños y medianos agroempresarios*

Kong RY, Lee SK, Law TW, Law SH, Wu RS. (2002). *Rapid detection of six types of bacterial pathogens in marine waters by multiplex PCR* Water Research. 36:2802-2812.

Moore, J., et al. (2005). *Campylobacter*. Veterinary Research 36: 351-382

Rivas M, Sosa-Estani S, Rangel J. et al. (2008). *Risk factors for sporadic Shiga toxin- producing Escherichia coli infections in children, Argentina* Emerging Infectious Disease. 14:763-770.

Vandevenne, CA. (2002) *Métodos de Análisis Microbiológicos de los Alimentos*. Editorial Díaz de Santos.

World Health Organization, Foodborne Diseases, Emerging (2002).

15TCA.Comportamiento reológico de masas obtenidas a partir de harina de trigo complementada con subproducto de la industria aceitera de pistacho

Rheological properties of dough obtained from wheat flour with pistachio obtained as a by-product of the oil industry

María V. Salinas¹, Luciano M. Guardianelli¹, María C. Puppo^{1,2}

1. CIDCA - CIC -CONICET- Facultad de Ciencias Exactas- Universidad Nacional de La Plata. 47 y 116 (C.P 1900) La Plata, Argentina. salinasvicky@hotmail.com

2. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales-Universidad Nacional de La Plata. 60 y 119 (C.P. 1900). La Plata, Argentina.

Resumen

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la incorporación de harina de pistacho a harina de trigo sobre las propiedades reológicas de masa de trigo. Se utilizaron diferentes niveles de harina de pistacho (HP): 5, 15 y 15%. Una masa sin pistacho fue utilizada como control (C). Ensayos farinográficos y alveográficos, contenido de gluten, humedad (H), actividad acuosa (a_w), potencial de hidrógeno (pH), análisis de perfil de textura y ensayos de relajación fueron estudiados sobre las masas. La absorción de agua (Abs), el tiempo de desarrollo (t_d) y la estabilidad obtenidos del farinograma disminuyeron con el incremento de HP, mientras que el aflojamiento aumentó. Además con el agregado de HP, la tenacidad (P), la extensibilidad (L) y el trabajo de deformación (W) disminuyeron. Los valores de gluten húmedo (GH) y gluten seco (GS) aumentaron con el nivel de pistacho, sin embargo la relación GH/GS disminuyó. La masa C presentó mayor H y pH que las masas con pistacho; ambos parámetros disminuyeron con el nivel de HP utilizado. Sin embargo, no hubo diferencias significativas en la a_w entre las diferentes masas. La incorporación de 5% de HP, produjo una masa más blanda y menos consistente pero igualmente adhesiva y elástica que C. Sin embargo, al aumentar el nivel de HP la dureza y elasticidad de las masas aumentó. Los módulos elásticos E_1 y E_3 obtenidos del ensayo de relajación aumentaron mientras que los tiempos de relajación no se modificaron significativamente con HP. Estos cambios obtenidos en la reología de la masa debido a la presencia de harina de pistacho podrían tener diferentes consecuencias en la calidad del pan.

Palabras clave: harina de pistacho desgrasada, harina de trigo, masa panaria, propiedades reológicas.

Abstract

The objective of this work was to study the effect of the incorporation of pistachio flour to wheat flour on the rheological properties of wheat dough. Pistachio flour (HP) levels used were: 5, 15 and 15%, and wheat flour dough was studied as a control sample. Dough were studied by farinographic and alveographic assays, gluten content, moisture (H), water activity (a_w), potential of hydrogen (pH); texture profile analysis and relaxation assays were also performed on different dough. The farinographic water absorption (Abs), development time (t_d) and the stability decreased when pistachio flour was used, whereas degree of softening was increase. In addition, with the addition of HP, tenacity (P), extensibility (L) and deformation work (W) decreased. The values of wet gluten (GH) and dry gluten (GS) increased with the HP. However the GH / GS ratio decreased. Control dough had higher H and pH than dough with pistachio. Both parameters decreased with the level of HP. However, no significant differences in a_w between different dough were obtained. The incorporation of 5% HP, produced a softer and less consistent dough but similar adhesiveness and elasticity than C. Nevertheless, with the increase in the level of HP, the dough hardness and elasticity increased. The elastic modules E_1 and E_3 obtained from the relaxation test also increased while the relaxation times were not significantly modified with HP. These changes obtained in rheology of dough due to the presence of pistachio flour could have different consequences on the bread quality.

Keywords: Defatted pistachio flour; wheat flour; wheat dough, rheological properties.

1. Introducción

El fruto del pistacho (*Pistacia vera* L.) resulta un alimento importante desde el punto de vista nutricional, debido a su alto contenido de nutrientes, proteínas de alto valor biológico, fibras, vitaminas y minerales. Argentina cuenta con un extenso territorio con diversidad de climas, siendo las zonas de Mendoza y San Juan ideales para el cultivo de pistacho. Si bien, actualmente el consumo de este fruto en nuestro país es bajo, un crecimiento sostenido en la producción de aceites comestibles se viene dando en estos últimos años siendo una actividad económica de gran relevancia en la actualidad. En este sentido, la elaboración de aceites vegetales no tradicionales, como el obtenido a partir de pistacho (*Pistacia vera* L. genotipo Kerman) ofrece una oportunidad poco explorada. Este incremento en la producción de aceite comestible genera un residuo sólido remanente que podría utilizarse como potencial ingrediente para consumo humano debido a que posee alto contenido de proteína, fibra y un remanente de lípidos ($\approx 30\%$) subutilizados, los cuales podrían aprovecharse para el consumo humano (Salinas *et al.*, 2016). La elaboración de panificados resultaría una alternativa interesante para el aprovechamiento de esta harina parcialmente desgrasada, por lo que el estudio de las propiedades reológicas de las masas constituye un camino previo a la obtención de panes de buena calidad panadera. Por esta razón, el objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto de la adición de harina de pistacho, obtenida como residuo de la industria aceitera, sobre las propiedades reológicas de las masas formadas con harina de trigo.

2. Materiales y métodos

Materiales

Se empleó harina de trigo tipificada como 0000 (CAA, 2017) donada por Molino Campodónico Ltda., Argentina) con 11,2 % proteínas. Otros ingredientes utilizados fueron: cloruro de sodio (Celusal, Argentina), harina de pistacho (Aceites del Desierto SRL) con 33,2 % de proteínas, 30,6 % lípidos, 3,63 % de cenizas y 8,5 % de humedad. Cada mezcla sólida contiene 1,5 % cloruro de sodio (base harina de trigo) y se agregaron diferentes porcentajes de harina de pistacho: 0 (Control), 5% (P5), 15% (P15) y 25% (P25) (base harina de trigo).

Metodología

Ensayo farinográfico.

Se realizó un ensayo farinográfico empleando un Farinografo de Brabender -300 g- (Brabender, Duigsburg, Alemania) según método 54-21, AACC (2000). Los parámetros obtenidos fueron: la absorción de agua (*Abs*) que es la cantidad de

agua destilada (mL agua/100 g de sólido), necesaria para que la masa alcance una consistencia determinada (500 UF), el tiempo de desarrollo (t_d) denominado al tiempo que transcurre desde el comienzo del agregado de agua hasta la consistencia máxima (segundo pico), la estabilidad (*Es*) es el tiempo (min) durante el cual la masa mantiene la máxima consistencia, desde el punto en que la parte superior de la curva impacta por primera vez la línea de 500 UF y el punto en que la deja. El aflojamiento (*Af*) es el parámetro que mide la caída de la masa en UF, representa la diferencia entre la máxima consistencia y la que se obtiene después de 12 minutos de haber alcanzado dicho valor máximo.

Ensayo alveográfico.

Se empleó un Alveógrafo de Chopin -300 g- (Villeneuve-la-Garenne Cedex, Francia) según método 54-30A, AACC (2000). Se determinó la sobrepresión máxima o tenacidad (*P*) que se relaciona con la resistencia de la masa a la deformación, la abscisa media a la ruptura o extensibilidad (*L*) que representa la extensibilidad de la masa antes de la ruptura, la relación *P/L* o balance entre la tenacidad y la extensibilidad de la masa; y el trabajo de deformación (*W*) parámetro que representa la fuerza panadera.

Formulación de masas.

Los sólidos (harina de trigo, sal y harina de pistacho parcialmente desgrasada) se mezclaron en la amasadora a pequeña escala (Keenwood Major, Italia). Una vez mezclados, se le adicionó el agua según la *Abs* y se amasó durante el tiempo de desarrollo (t_d) a 90 rpm. La masa obtenida se la laminó (4 veces), se dejó reposar durante 15 minutos a 25 °C envuelta en film para evitar su deshidratación.

Determinación de gluten.

Se determinó el contenido de gluten de las diferentes formulaciones de acuerdo al método AACC 38-12 (2000) modificado. La modificación consistió en colocar la cantidad de masa obtenida previamente en la amasadora planetaria equivalente a colocar 10 g de harina de trigo en el Glutomatic 2200 (Perten Instruments, Suecia), amasarla durante 1 minuto y lavarla durante 5 minutos empleando malla metálica de 80 μ m de poro. El gluten obtenido se centrifugó empleando una centrifuga 2015 (Perten Instruments, Suecia) a 6000 rpm durante 1 min. Se registró el peso del gluten húmedo total (m_1). Se calculó la cantidad de gluten húmedo (GH) cada 100 g de harina, referido a una harina de 14% de humedad. Finalmente, el gluten se secó en condiciones estandarizadas a 150 °C durante 5 minutos en el Glutork (Perten Instruments, Suecia) y se pesó (m_2) luego de

alcanzar temperatura ambiente. Se calculó el porcentaje de gluten seco (GS).

$$GH (\%) = (m_1/m) (100 - 14)/(100 - H) 100 \quad (2)$$

$$GS (\%) = (m_2/m) (100 - 14)/(100 - H) 100 \quad (3)$$

Donde m_1 , m_2 y m representan la masa, expresada en gramos, de gluten húmedo, gluten seco y cantidad de masa, respectivamente. Y la humedad de la harina está representada por H .

Humedad.

Se determinó el contenido de agua de la masa mediante el método indirecto a 105 °C. Esta determinación se realizó por triplicado.

Actividad acuosa.

Se determinó la actividad acuosa, asociada a la disponibilidad de agua, a 25 °C mediante punto de rocío empleando un equipo Meter Aqualab series 4 TEV (Decagon Devices Inc., Washington, Estados Unidos). Esta determinación se realizó por triplicado.

Potencial de hidrógeno (pH)

El pH de la masa fue determinado empleando pHmetro (SevenMuli, Mettler Toledo, Estados Unidos) con un electrodo de punta introducido en la masa. Se midió en 5 zonas diferentes de cada replicado ($n=3$).

Análisis de perfil de textura (TPA).

Se cortaron discos de masa de 3 cm de diámetro y 1 cm de alto. Se realizó un ciclo de doble compresión al 40% de la altura original usando la sonda SMSP/3 y una celda de 25kg. Se esperó 5 segundos entre ambos ciclos. La velocidad del ensayo fue de 0,5 mm/s. Se determinaron los siguientes parámetros de textura: **dureza** definida como la fuerza máxima obtenida durante el primer ciclo de compresión, **consistencia** que es la suma de las áreas positivas de ambas compresiones, **elasticidad** el cociente de la distancias medidas entre el comienzo y la fuerza máxima del segundo pico respecto del primer pico y **adhesividad** medida como el área negativa obtenida luego del primer ciclo de compresión.

Ensayo de relajación.

El ensayo de relajación consiste en deformar el material aplicando una compresión a deformación constante y registrar en función del tiempo, la fuerza que opone el material para mantener dicha deformación. Para ello, discos de masas se sometieron a una compresión de 40 % a 0,5 mm/s durante 20 minutos empleando el texturómetro. El ensayo se realizó a 25 °C. Para evitar la desecación

de las masas, los bordes fueron cubiertos con vaselina semisólida. El ensayo se realizó por triplicado para cada formulación.

En la Figura 1 se muestra la curva de esfuerzo en función del tiempo, la misma se ajustó utilizando el modelo de Maxwell generalizado (Steffe, 1996) usando OriginPro8 (OriginLab Corporation, MA, Estados Unidos).

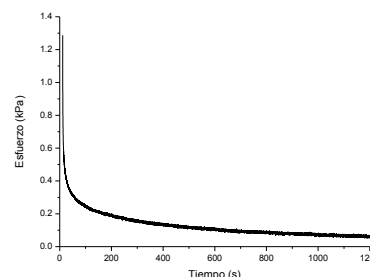


Figura 1: Gráfico típico de esfuerzo en función del tiempo obtenido a partir de las masas.

Este modelo, es el que mejor ajusta en las masas, y considera dos elementos de Maxwell y un resorte asociados entre sí en paralelo. Este último, contempla el término del esfuerzo de equilibrio (Figura 2).

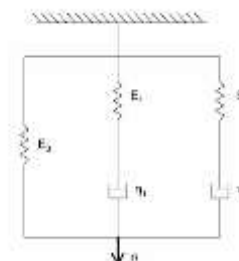


Figura 2. Modelo de Maxwell generalizado aplicado a las masas.

La ecuación obtenida del modelo de Maxwell generalizado (Ecuación 1) es la siguiente:

$$\sigma(t) = A_1 \exp(-t E_1/\eta_1) + A_2 \exp(-t E_2/\eta_2) + \epsilon_0 E_3 \quad (1)$$

Donde $\sigma(t)$ representa el esfuerzo medido durante el ensayo de relajación, t representa el tiempo, A_1 y A_2 son los factores pre-exponenciales. El módulo elástico (E_i) es definido como la relación entre el esfuerzo y la constante de deformación ($E_i = \sigma_i/\epsilon_0$). Donde ϵ_0 es una tensión constante calculada como el cociente de la deformación a la altura inicial de la muestra. El tiempo de relajación (T_i) está definido como la relación entre la viscosidad y el módulo elástico ($T_i = \eta_i/E_i$).

Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como la media \pm desviación estándar. Diferencias significativas ($p < 0,05$) fueron determinadas mediante un análisis de

varianza (ANAVA) usando el programa Statgraphics Plus software.

3. Resultados y Discusión

En la Figura 3 se muestra los farinogramas obtenidos de las diferentes formulaciones estudiadas. El farinograma de la formulación control (C), sin harina de pistacho, presenta dos picos. Se puede observar un primero más pronunciado a tiempos cortos asociado a la hidratación de los componentes de la harina y un segundo pico alrededor de los 11,7 min correspondiente a una mayor consistencia en la masa como consecuencia del desarrollo de la red de gluten.

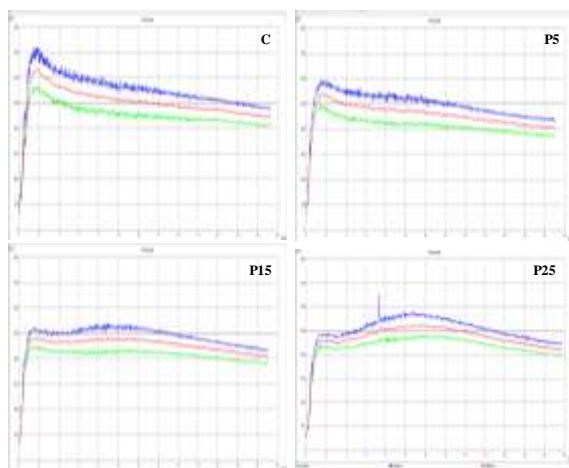


Figura 3. Farinogramas obtenidos a partir de la formulación control (C), 5% de HP (P5), 15% de HP (P15) y 25% DE HP (P25).

A medida que se incorpora harina de pistacho a la mezcla va aumentando la consistencia máxima del segundo pico sin modificarse significativamente los tiempos de desarrollo. Salinas et al. (2015) estudiaron la influencia del agregado de harina de algarrobo americana (*Prosopis* spp) y europea (*Ceratonia Siliqua*) encontrando un segundo pico más pronunciado respecto al control. Estos autores atribuyeron esta subida a la diferente interacción del agua con la fibra (prosopis) y las proteínas (ceratonia). En el presente trabajo, el pistacho provee tanto fibra como proteína, por lo tanto ambos componentes podrían contribuir a la formación de una red de gluten más consistente. Además del farinograma, los parámetros obtenidos del mismo fueron modificados por la presencia de harina de pistacho. Se encontró que los valores de *Abs* fueron 55,9%, 55,1%, 53,9% y 52,1% para las formulaciones C, P5, P15 y P25, respectivamente. La *Es* disminuyó entre 20,5 min (C) a 17,3 (P25) y el *Af* aumentó desde 50 (C) hasta 63 UF (P25). Esta disminución en la estabilidad con la

incorporación de HP podría tener consecuencias en el comportamiento reológico de las masas.

La Tabla 1 muestra los parámetros obtenidos a partir del alveograma. La tenacidad (P) y la extensibilidad (L) disminuyeron significativamente con la incorporación de harina de pistacho, principalmente

Tabla 1. Parámetros alveográficos

Formulación	P (mm de H ₂ O)	L (mm)	P/L (-)	W (J.10 ⁴)
C	85 ± 8 ^c	62 ± 17 ^b	1,4 ± 0,4 ^{ab}	241 ± 47 ^c
P5	56 ± 8 ^b	57 ± 18 ^b	1,0 ± 0,3 ^{ab}	136 ± 50 ^b
P15	41 ± 5 ^a	22 ± 9 ^a	1,9 ± 0,9 ^{bc}	44 ± 15 ^a
P25	38 ± 5 ^a	16 ± 2 ^a	2,4 ± 0,4 ^c	28 ± 4 ^a

Diferentes letras en una misma columna indican diferencias significativas (p < 0,05).

a niveles > 15% y probablemente debido a la dilución de las proteínas formadoras de gluten presente en el trigo. A pesar de que la presencia de harina de pistacho produjo masas menos elásticas y extensibles, la relación P/L resultó incrementada. Al observar los valores de trabajo de deformación (W) en la Tabla 1 se encontró que la masa control presentó el mayor W de 241.10⁻⁴ J (Tabla 1). El agregado de pistacho disminuyó W, fundamentalmente cuando se incorporó 15 y 25% de harina de pistacho; estos resultados sugieren que una mayor incorporación de harina de pistacho a la masa a utilizar en la elaboración de panes podría no soportar todos los procesos tecnológicos involucrados en la panificación a pesar de tener una buena relación P/L, pudiendo afectar posiblemente la elaboración de un pan tipo francés. Tal vez, sea necesario recurrir a la fabricación de un pan de molde en formulaciones con alto porcentaje de pistacho.

Los valores de gluten húmedo (GH) obtenidos aumentaron significativamente con el nivel de harina de pistacho (Tabla 2). En ese mismo sentido, se modificó la cantidad de gluten seco (GS).

Tabla 2. Gluten húmedo, gluten seco, relación gluten húmedo/gluten seco de las masas estudiadas.

	GH (%)	GS (%)	GH/GS
C	3,3 ± 0,1 ^a	1,07 ± 0,01 ^a	3,13 ± 0,03 ^c
P5	3,5 ± 0,1 ^a	1,16 ± 0,04 ^b	2,99 ± 0,04 ^b
P15	3,9 ± 0,2 ^b	1,35 ± 0,04 ^c	2,91 ± 0,08 ^b
P25	4,1 ± 0,2 ^c	1,48 ± 0,07 ^d	2,80 ± 0,08 ^a

Diferentes letras en una misma columna indican diferencias significativas (p < 0,05).

Debido a que el gluten formado durante el amasado es la base de la estructura de la masa, no

sólo la cantidad sino también su calidad es importante, y está estrechamente relacionada con la naturaleza de las proteínas y su capacidad de hidratación, por lo que el valor GH/GS es un parámetro importante a evaluar. La relación GH/GS de la masa control fue la mayor (Tabla 2). Este valor disminuyó con el nivel de pistacho, sin embargo para todas las formulaciones se obtuvieron valores de GH/GS alrededor de 3, que es un valor óptimo para masas a emplear en panificación.

Al evaluar las propiedades de hidratación de las masas se encontró que la humedad disminuye significativamente con la incorporación de harina de pistacho (Tabla 3), estos valores se relacionan directamente con una menor absorción de agua por parte de la mezclas con la incorporación de pistacho.

Tabla 3. Contenido y disponibilidad de agua en las diferentes masas.

Formulación	H (%)	a_w (-)	pH (-)
C	43,1 ± 0,5 ^b	0,977 ± 0,003 ^a	5,78 ± 0,01 ^c
P5	43,0 ± 0,6 ^b	0,976 ± 0,001 ^a	5,72 ± 0,02 ^b
P15	42,7 ± 0,2 ^b	0,975 ± 0,001 ^a	5,71 ± 0,02 ^b
P25	41,8 ± 0,2 ^a	0,974 ± 0,002 ^a	5,65 ± 0,01 ^a

Parámetros: Humedad (H%), actividad de agua (a_w), potencial de hidrógeno (pH). Diferentes letras en una misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

A pesar de que la cantidad de agua varió la disponibilidad fue estadísticamente igual en todas las formulaciones ($a_w \cong 0,97$). En la Tabla 3 se muestra también los valores de potencial de hidrógeno (pH) de las diferentes masas, este parámetro disminuyó con el agregado de pistacho, esta acidificación en la masa podría ser la responsable de una distinta interacción entre las proteínas formadoras de la red de gluten la cual podría tener impacto en un comportamiento reológico diferencial.

En la Figura 4 se muestran los valores de dureza, consistencia, adhesividad y elasticidad obtenidos del análisis de perfil de textura. La dureza de la masa control fue significativamente mayor que la de las masas con 5 y 15% de HP. Sin embargo, con un 25% de HP la consistencia resultó mayor, alcanzando un valor estadísticamente similar al de la masa control.

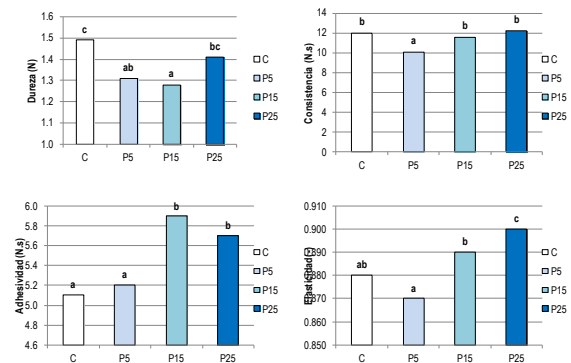


Figura 4. Dureza, consistencia, adhesividad y elasticidad de las masas obtenidos a partir del análisis de textura.

No hubo diferencias significativas entre los valores de consistencia de las masas, a excepción de la masa con 5% de HP que fue menor. Las masas con alta cantidad de harina de pistacho agregada, a pesar de ser más consistentes, fueron las más adhesivas y elásticas (Figura 4).

Los ensayos de relajación han sido previamente utilizados en el estudio de las propiedades reológicas de las masas (Rodríguez- Sandoval *et al.*, 2009; Correa *et al.*, 2010). En los sólidos viscoelásticos como las masas el esfuerzo decae hacia un valor de equilibrio. Las curvas de relajación exhiben tres zonas (Yadav *et al.*, 2006): una primera zona de gran pendiente, una zona de decaimiento intermedio, y una tercera con una pendiente insignificante que alcanza un valor de esfuerzo de equilibrio. La relajación es un fenómeno relacionado con la reorientación molecular y estructural del sistema y el módulo elástico E y el módulo de relajación T obtenidos del modelo de Maxwell generalizado permiten estudiar esta orientación estructural de los componentes en la masa.

El tiempo de relajación (T) es inverso al módulo elástico E y está relacionado con el grado de relajación, a mayor T, mayor es el componente viscoso con respecto al elástico y más se relaja la masa. E_1 y T_1 gobiernan la relajación al comienzo de la deformación, que se atribuye a la orientación de las moléculas de bajo tamaño, mientras que E_2 y T_2 (zona intermedia) representan la relajación de las moléculas poliméricas. Si el esfuerzo no cambia con la deformación alcanzando el equilibrio, predomina el término E_3 el cual representa la energía almacenada. Como al comienzo la masa se relaja en mayor proporción, T_1 es en general mayor que T_2 (Tabla 4). Los valores más altos de T_1 se observaron en las muestras con mayor contenido de pistacho aunque sin diferencias significativas, sugiriendo una mayor relajación de la masa. Por otro lado, el comportamiento de T_2 resultó aleatorio y sin diferencias entre las muestras.

Tabla 4. Tiempos de relajación obtenidos a partir del ensayo de relajación.

	T ₁ (seg)	T ₂ (seg)
C	275 ± 16 a	7,9 ± 0,6 a
P5	273 ± 8 a	7,1 ± 0,5 a
P15	282 ± 12 a	7,0 ± 0,8 a
P25	290 ± 15 a	7,3 ± 0,7 a

Diferentes letras en una misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Las masas presentaron en todos los casos valores un orden mayor de E₂ comparados con los modulo E₁ y E₃ (Tabla 5). Estos resultados sugieren que las proteínas poliméricas del gluten que se relajan en la zona 2, representada por E₂, están contribuyendo en gran medida a la elasticidad de la masa.

Tabla 5. Módulos elásticos obtenidos a partir del ensayo de relajación.

	E1 (kPa)	E2 (kPa)	E3 (kPa)
C	0,24 ± 0,02 ab	2,0 ± 0,3 ab	0,06 ± 0,01 a
P5	0,21 ± 0,00 a	1,8 ± 0,1 a	0,05 ± 0,00 a
P15	0,26 ± 0,04 ab	2,8 ± 0,6 b	0,09 ± 0,02 a
P25	0,28 ± 0,05 b	2,7 ± 0,8 b	0,13 ± 0,04 b

Diferentes letras en una misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

En la Tabla 5, se observó un aumento significativo de los tres módulos elásticos, fundamentalmente para el módulo elásticos E₃ cuando se incorporó un 25 % de HP a la harina de trigo, sugiriendo que la incorporación pistacho aumenta la energía almacenada en la masa. Un aumento de los módulos elásticos con HP se correlaciona con los valores de elasticidad obtenidos a partir del análisis de textura.

4. Conclusiones

La incorporación de harina de pistacho produjo cambios en el comportamiento reológico y de hidratación de la masa que podrían resultar perjudiciales, desde el punto de vista tecnológico, en la elaboración de productos panificados. Las masas absorbieron menos agua y fueron menos estables con el agregado de HP. Por otro lado, masas con > 15% HP, exhibieron un mayor contenido de gluten húmedo, fueron más consistentes, elásticas y tenaces (>P/L), relacionado posiblemente con un refuerzo de las proteínas poliméricas que forman el gluten. Estos resultados indicarían que es posible, a pesar de la disminución del trabajo de deformación de las masas con HP, obtener panificados de trigo con buena calidad panadera aprovechando un

subproducto de la industria aceitera que en la actualidad se encuentra subvalorado.

5. Referencias

American Association of Cereal Chemists (AACC International). (2000), 10° Ed. St. Paul, MN: The American Association of Cereal Chemists, Inc.

Código Alimentario Argentino CAA (2013). Tomo I-a. Capítulos IX (Art. 661-Res. 167) y XVII. http://www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas_alimentos_caa.asp. Accedido en noviembre de 2017.

Correa M.J., Añón M.C., Pérez G.T., Ferrero C. (2010). *Effect of modified celluloses on dough rheology and microstructure*. Food Research International, 43, 780–787.

Rodriguez-Sandoval E., Fernandez-Quintero A., Cuvelier, G. (2009). *Stress relaxation of reconstituted cassava dough*. LWT - Food Science and Technology, 42, 202–206.

Salinas, M. V.; Guardianelli, L. M., Puppo, M. C. (2016). *Actividad antioxidante y caracterización química de harina de pistacho obtenida como residuo de la industria aceitera*. Trabajo presentado en el VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CICYTAC 2016). Córdoba. Argentina.

Salinas, M. V., Carbas, B., Brites, C., Puppo, M. C. (2015). *Influence of different carob fruit flours (Ceratonia siliqua L.) on wheat dough performance and bread quality*. Food and Bioprocess Technology, 8(7), 1561-1570.

Steffe J.F. (1996). *Rheological methods in food process engineering*. 2ª ed.. East Lansing: Freeman Press.

Yadav N., Roopa B.S., Bhattacharya S. (2006). *Viscoelasticity of simulated polymer and comparison with chickpea flour doughs*. Journal of Food Process Engineering, 29: 234-252.

16TCA. Efecto del reemplazo parcial de cloruro de sodio por cloruro de potasio sobre características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de fiambres cocidos de cerdo para emparedados.

Effect of partial replacement of NaCl with KCl on physico-chemical, microbiological and sensory characteristics in cooked pork cold meat.

Virginia Gonzalez Estevez¹, Aldana Chesta¹, Mariana Angélica Montenegro².

1. Universidad Tecnológica Nacional, Facultad Regional Villa María. Av. Universidad 450, Villa María, Córdoba, Argentina. 2. CIT VM-CONICET, Universidad Nacional de Villa María, Arturo Jauretche 1555, Villa María, Córdoba, Argentina. Correo electrónico de contacto: virginia_ge@frvm.utn.edu.ar

Resumen

Los productos cárnicos constituyen una de las categorías de alimentos que contribuyen en gran medida a la ingesta de sal en Argentina. La sal, desde el punto de vista tecnológico, es esencial para desarrollar textura, sabor y color de estos productos y contribuye a su conservación. Por otro lado, el consumo excesivo de sal causa hipertensión, responsable de cardiopatías y accidentes cerebrovasculares. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de reemplazar parcialmente el NaCl por KCl en fiambres cocidos de cerdo para emparedados y determinar si es posible obtener un producto con características sensoriales apropiadas. Para ello, se elaboraron fiambres con cuatro concentraciones diferentes de NaCl, se los sometió a un análisis sensorial (panel no entrenado) y se midieron propiedades como: textura, color, pH y contenido de humedad, en las que la sal cumple un rol fundamental. Además, se realizaron pruebas microbiológicas al producto. Los resultados indican que incluso para el tratamiento más pretencioso, es posible elaborar fiambres cocidos de cerdo para emparedados más saludables y con características sensoriales aceptables, beneficioso para consumidores y además para la industria cárnica.

Palabras clave: fiambre de cerdo, sodio, hipertensión, sensorial.

Abstract

Meat products constitute one of the four categories considered to be contributing the most to salt intake in Argentina. A technological approach leads to the fact that salt is essential in color, flavour and texture development in meat products and it contributes to their preservation. On the other hand, excessive intakes of salt cause hypertension, responsible of several heart disease and stroke deaths. The aim of this study was to determine the effect of partial replacement of sodium chloride with potassium chloride in cooked pork cold meat, and if it is still possible to obtain a product with acceptable sensory characteristics. In order to achieve this, products with four different concentrations of salt were prepared. They underwent a sensory analysis (untrained panel) and certain technological properties were measured: texture, color, pH and moisture content; salt meets a fundamental role in obtaining all of them. Additionally, the microbial count of the most relevant microbial groups was performed. The results indicate that even in the case of the most pretentious treatment, it is possible to elaborate healthier cooked pork cold meat with acceptable sensory characteristics, which would be beneficial to both consumers and the meat industry.

Keywords: cooked pork product, sodium, hypertension, sensory.

1. Introducción

Las enfermedades no transmisibles como las enfermedades cardiovasculares, el cáncer, la diabetes o las enfermedades pulmonares crónicas

han superado a las enfermedades infecciosas como principales causas de mortalidad en el mundo en los últimos tiempos (OMS, 2013). En particular, las enfermedades cardiovasculares son responsables de prácticamente un tercio de las muertes mundiales totales anuales y, uno de los factores de riesgo clave en su aparición, es la hipertensión, responsable de al menos el 45% de las muertes por cardiopatías y el 51% de las muertes por accidente cerebrovascular (OMS, 2011). La relación entre el consumo de sal (cloruro de sodio) y las funciones renal y cardíaca ha sido documentada (Aburto et al., 2013; Rohrmann et al., 2013).

La comunidad científica internacional recomienda un consumo de sal por persona menor a 5 g por día, equivalente a 2000 mg de sodio (OMS y FSA, 2010). En Argentina, según datos del Ministerio de Salud de la Nación, el consumo de sal por persona ronda los 12 g diarios, equivalentes a 4800 mg de sodio (CSRSI, 2010) y, entre el 65% y el 70% de ese consumo proviene de alimentos procesados o industrializados y alimentos preparados en restaurantes, rotiserías y puestos de comida. Como consecuencia de esto, organismos nacionales e internacionales recomiendan reducir el consumo de sal para prevenir o reducir la incidencia de la hipertensión.

A finales de 2013 se aprobó en Argentina la Ley N° 26905 de Reducción del Consumo de sodio, que plantea la reducción progresiva de la sal contenida en los alimentos procesados hasta alcanzar los valores máximos fijados por la cartera sanitaria nacional, en grupos alimentarios definidos.

Pero desde el punto de vista tecnológico, la sal resulta esencial en la elaboración de la mayoría de alimentos, en particular en el caso de los productos cárnicos, en los que desempeña un papel fundamental en el desarrollo de la textura, el sabor, el color y contribuye a la conservación (Qiaofen y Da-Wen, 2007; García-Garí y Totosaus, 2008). De hecho, el contenido de sodio en los “productos cárnicos y sus derivados” es tan elevado por la importancia que tiene en sus características finales, que constituyen uno de los tres grupos alimenticios contemplados por la Ley 26905 para la reducción de su contenido de sodio. Por todo lo anterior, la reducción del contenido de cloruro de sodio en este tipo de alimentos resulta especialmente dificultosa y, hacerlo sin descuidar las características sensoriales del producto final, constituye un desafío.

Existen algunas estrategias para reducir los niveles de sodio en alimentos, una de las empleadas en numerosas investigaciones es la sustitución parcial del cloruro de sodio por otras sales de cloro, de manera individual o combinadas (Bampi et al., 2016; Inguglia et al., 2017), que contribuyen a las mismas

funciones que el cloruro de sodio, al mismo tiempo que mantienen las características sensoriales del producto que resulta más saludable.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de reemplazar parcialmente el cloruro de sodio por cloruro de potasio en fiambres cocidos de cerdo para emparedados y determinar si es posible obtener un producto con características sensoriales apropiadas para los consumidores. Para ello, se elaboraron los productos con distintas concentraciones de sal, sustituyendo parcialmente el cloruro de sodio por cloruro de potasio en cuatro tratamientos. Posteriormente, se midieron sus propiedades físico-químicas textura, color, pH y contenido de humedad (importante desde el punto de vista microbiológico y por el rendimiento), parámetros en los que la sal cumple un rol fundamental. Se realizó también el recuento de los grupos microbianos más relevantes. Por último, se los sometió a un análisis sensorial por panel no entrenado.

2. Materiales y métodos

Elaboración de los fiambres

El fiambre cocido de cerdo para emparedados es un chacinado no embutido, elaborado con trozos y/o recortes de carne de cerdo sometido a cocción. Definido de esta manera por art. 360 sexto del CAA (Ley 18284/69). Para la elaboración de los fiambres se siguieron las etapas básicas de acondicionamiento, picado, adición de salmuera (en la que se incorporaron todos los aditivos) y almidón, mezclado, amasado, envasado, cocción y enfriamiento.

Tabla 1. Composición de la salmuera utilizada en la elaboración

Componente	%	% en salmuera
Carne	63,5	-
Almidón	1,5	-
Salmuera	35	-
Sal	1,82	83,16
Agua	29,11	5,2
Proteína de soja	1,61	4,6
Nitrito de sodio	0,014	0,04
Fosfatos	0,53	2,6
Ácido Eritórbico	0,11	0,3
Nuez moscada y pimienta blanca	0,91	2,6
Azúcar	0,91	2,6

Los cortes de carne fresca de cerdo se adquirieron en una empresa cárnica de Villa María. La composición de la salmuera utilizada en el proceso de elaboración se detalla en la Tabla 1. Todos los ingredientes que la componen (cloruro de sodio/cloruro de potasio, proteína de soja, almidón, nitrito de sodio, tripolifosfato de sodio, nuez moscada, pimienta blanca molida, azúcar y ácido eritórbito) fueron adquiridos en dos empresas abastecedoras de este tipo de insumos (Córdoba). Los cuatro tratamientos de salado estudiados son: Tratamiento I: 100% NaCl; Tratamiento II: 65% NaCl – 35% KCl; Tratamiento III: 50% NaCl – 50% KCl; Tratamiento IV: 40% NaCl – 60% KCl.

Medición de color

Las mediciones de color se realizaron con colorímetro CR-400/410 (Konica Minolta Sensing Inc., Japan) en las muestras de todos los tratamientos de los productos terminados, utilizando el iluminante D65 y el observador estándar 2°. Debido a la característica de la muestra (superficie húmeda) se utilizó como accesorio al equipo un tubo de proyección de luz con vidrio. El equipo fue calibrado utilizando un plato de calibración blanco. Por cada tratamiento se realizaron siete mediciones sobre rodajas de 1 cm de espesor. Los parámetros de color analizados fueron: L* (luminosidad): (0 = negro y 100 = blanco); a* (tono): (negativo = verde, positivo = rojo); b* (tono): (negativo = azul, positivo = amarillo).

Análisis de perfil de textura

Las mediciones instrumentales de textura se realizaron sobre rodajas de 3 cm de diámetro y 1 cm de espesor, obtenidas con sacabocado a partir de fetas cortadas de una pieza entera de fiambre una vez descartados los extremos. La temperatura de las piezas ensayada fue uniforme encontrándose en un rango de 10-15° C. Los resultados informados en cada caso corresponden al promedio de nueve mediciones por cada tratamiento.

El Análisis de Perfil de Textura (TPA) utilizando un texturómetro TMS-Pro (Food Technology). La sonda de medición fue un plato de aluminio de 100 mm de diámetro. Los parámetros que constituyen el TPA son dureza, adhesividad, cohesividad, elasticidad y masticabilidad.

Medición de pH

El pH de los productos terminados, elaborados con cada uno de los tratamientos, se determinó usando un pH-metro, es decir por el método potenciométrico, en mezcla de producto y agua destilada (1:1) según norma ISO 2917:1999.

Determinación de humedad

La cantidad de agua presente en los productos finales se determinó siguiendo el procedimiento gravimétrico según método oficial (ISO 1442:1997) mediante su desecación en una estufa a 105 °C a presión atmosférica, hasta la obtención de un peso constante.

Análisis microbiológicos

Se cuantificaron aerobios mesófilos por recuento en placa (ISO 4831:2006) y E. coli, a través de la técnica del número más probable (ISO 16649-3:2005), de acuerdo a lo previsto para chacinados cocidos no embutidos en el Capítulo VI del Código Alimentario Argentino (Ley 18284/69) en donde se establecen también criterios microbiológicos que fueron considerados para los análisis. Se analizaron 5 muestras de cada tratamiento

Análisis sensorial

La evaluación sensorial de los productos terminados fue llevada a cabo a través de pruebas afectivas, también conocidas como estudios de consumidores.

Seguidamente de la etapa de secado-maduración, los fiambres cocidos con los cuatro tratamientos fueron sometidos a una evaluación hedónica, una prueba de aceptación global y una de preferencia, con la finalidad de evaluar la influencia del reemplazo parcial de cloruro de sodios por cloruro de potasio sobre características sensoriales. El tratamiento I (100 % NaCl) se utilizó como control. Los fiambres cocidos se desmoldaron y se los cortó en rebanadas de aproximadamente 5 mm de espesor.

Las rebanadas se dejaron reposar en un plato plástico blanco por 30 minutos a una temperatura de 20-23 °C antes de servirse. Las muestras fueron evaluadas por un panel no entrenado de 50 miembros en tres sesiones diferentes. A cada uno se le proveyó un vaso de agua con 100 ml aproximadamente a 12 °C y una tostada o galleta sin sal después de cada muestra. Cada panelista debió completar una hoja de evaluación que le fue suministrada.

Para la prueba de nivel de agrado se utilizaron escalas hedónicas estructuradas (Tabla 2) para cuantificar la magnitud de la aceptabilidad de los productos, divididas en varios puntos, cada uno de los cuales está marcado por una expresión descriptiva que refleja el grado de aceptación o de rechazo que provoca el alimento (Mora, 2010).

Tabla 2. Escala empleada en prueba de nivel de agrado

1	Me disgusta mucho
2	Me disgusta bastante
3	Me disgusta levemente
4	Indiferente
5	Me gusta levemente
6	Me gusta bastante
7	Me gusta mucho

Para la prueba de aceptación, cada panelista debió escoger una de las cuatro muestras (correspondientes a cada uno de los tratamientos) y registrarla al final de la hoja de evaluación como su tratamiento favorito. De la misma manera, debió escoger y registrar el tratamiento que consideró debía ser totalmente rechazado.

Análisis estadístico de resultados

Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente empleando el software GraphPad Prism v.5.03, mediante un análisis de varianza ANOVA simple, con el objetivo de determinar si existían diferencias significativas en los parámetros estudiados para los productos elaborados con los cuatro tratamientos propuestos con un nivel de significancia del 95,0%.

3. Resultados y Discusión

Color

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en los parámetros a^* y L^* al comparar los valores obtenidos para los fiambres cocidos elaborados con cada tratamiento (Tabla 3). Sin embargo, existen diferencias significativas entre todos los tratamientos para el parámetro b^* , encontrándose las medias de los Tratamientos I y IV en los extremos. Los valores de los parámetros de color se encontraron dentro de los promedios reportados por otros autores para productos similares (Frontela et al., 2006; Torres et al., 2012). Estos resultados coinciden parcialmente con los de Barbieri et al. (2016), que no encontraron diferencias significativas en ninguno de los parámetros de color entre distintos tratamientos de salado para jamón cocido.

Textura

El análisis de textura que se llevó a cabo en los productos terminados mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) en todos los parámetros estudiados, excepto la adhesividad entre el Tratamiento IV y los restantes (Tabla 3). Todos los valores del perfil de textura se encontraron dentro de los promedios reportados por otros autores para productos similares (Frontela et al., 2006, Kameník

et al., 2017). Barbieri et al. (2016), no encontraron diferencias significativas en el perfil de textura entre distintos tratamientos de salado para jamón cocido, en los que se redujo la concentración de sodio, pero ninguno de ellos fue tan exigente como el Tratamiento IV del presente estudio. Teniendo eso en cuenta, los resultados obtenidos por los autores concuerdan con los obtenidos en esta investigación.

Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de las cuatro formulaciones

Parámetro/Tratamiento	I	II	III	IV
a^*	11,58 ± 0,93 ^a	12,58 ± 1,25 ^a	12,54 ± 1,45 ^a	13,16 ± 0,62 ^a
b^*	7,29 ± 0,36 ^c	8,51 ± 1,13 ^{ab}	8,02 ± 0,65 ^{bc}	9,32 ± 0,47 ^a
L^*	61,02 ± 1,31 ^a	60,64 ± 1,14 ^a	60,50 ± 1,70 ^a	61,41 ± 1,05 ^a
Dureza (N)	74,75 ± 15,97 ^b	72,20 ± 6,15 ^b	71,00 ± 16,75 ^b	52,10 ± 8,47 ^a
Adhesividad (N.mm)	0,31 ± 0,07 ^a	0,28 ± 0,03 ^a	0,29 ± 0,14 ^a	0,28 ± 0,08 ^a
Cohesividad	0,48 ± 0,04 ^b	0,50 ± 0,00 ^b	0,49 ± 0,03 ^b	0,42 ± 0,04 ^a
Elasticidad (mm)	5,25 ± 0,42 ^b	4,97 ± 0,32 ^b	4,89 ± 0,13 ^b	4,47 ± 0,19 ^a
Masticabilidad (mJ)	187,33 ± 51,31 ^b	164,22 ± 25,71 ^b	170,28 ± 43,15 ^b	95,90 ± 27,35 ^a
pH	6,35 ± 0,19 ^a	6,42 ± 0,21 ^a	6,47 ± 0,16 ^a	6,53 ± 0,18 ^a
% Humedad	71,70 ± 2,03 ^a	72,01 ± 2,04 ^a	72,77 ± 2,06 ^a	72,86 ± 2,07 ^a
Aerobios mesófilos (UFC/g)	<1000	<1000	<1000	<1000
E. Coli (UFC/g)	<3	<3	<3	<3

pH

El pH de los productos obtenidos a través de los cuatro tratamientos, no presentó diferencias significativas con un nivel de confianza del 95% en ningún caso, aunque se observó una tendencia a un pH mayor a medida que aumentaba la concentración de cloruro de potasio (Tabla 3). Estos valores coinciden con los obtenidos por Frontela et al. (2006).

Contenido de humedad

Se determinó el contenido de humedad en los productos finales y no se encontraron diferencias significativas entre los cuatro tratamientos estudiados (Tabla 3). Resultados similares obtuvieron Frontela et al (2006). Por su parte, Bampi et al. (2016) que sustituyeron parcialmente el cloruro

de sodio por cloruro de potasio en tres tratamientos, no encontraron diferencias significativas sobre la humedad final en jamón cocido, lo que coincide con los resultados del presente estudio.

Análisis microbiológicos

Los productos elaborados cumplieron con los criterios microbiológicos establecidos en el CAA de acuerdo a los recuentos de aerobios mesófilos y E. Coli, habiéndose obtenido recuentos negativos en las diferentes formulaciones de sal aplicadas (Tabla 3). Esto podría estar relacionado a que el pH y el contenido de humedad de los productos finales tampoco sufrieron cambios significativos con el mismo nivel de confianza al sustituir parcialmente el cloruro de sodio por la sal de potasio e implica que el cloruro de sodio puede ser reemplazado por cloruro de potasio en fiambres hasta un 60 % sin riesgos bromatológicos. Esto concuerda con lo publicado por otros autores (Bidlas y Lambert, 2008) que indican que el cloruro de potasio tiene un efecto antimicrobiano similar al del cloruro de sodio.

Análisis sensorial

La Tabla 4 y la Figura 1 muestran los resultados de la prueba hedónica de consumidores realizada al final del proceso de los fiambres cocidos de cerdo elaborados con diferente contenido de cloruro de sodio.

Como puede verse en la tabla, no se encontraron diferencias significativas entre los distintos tratamientos para ninguno de los atributos estudiados. De cualquier manera, la textura fue la más afectada por la reducción de sal, pudiendo observarse un valor menor para el tratamiento II, respecto del resto.

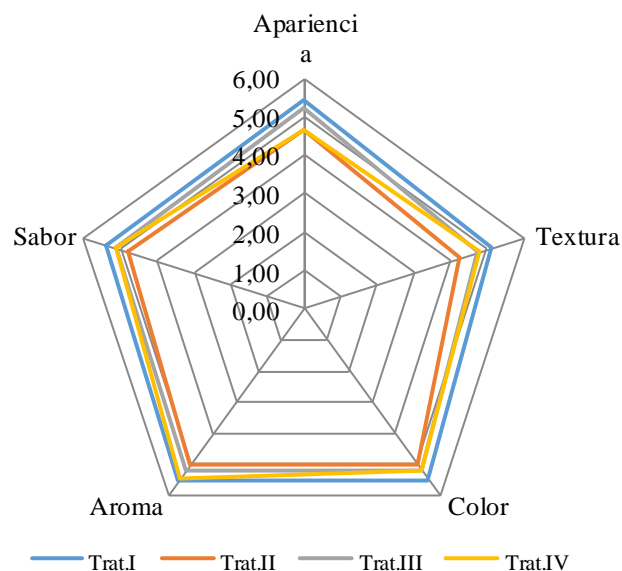
Como era de esperarse, al tratamiento I (control) le corresponden las mejores puntuaciones en todos los atributos, lo que se condice con los resultados del estudio de preferencia, en el que resultó el más elegido por los consumidores (32%), seguido por el tratamiento IV (29%).

El panel no detectó las diferencias en la textura y el color que quedaron en evidencia en los análisis del perfil de textura y de color, en los que se habían encontrado diferencias significativas en algunos de los tratamientos.

En cuanto a la aceptación general del producto final, el 57% de los consumidores consideró que ninguno de los tratamientos debería ser rechazado. Sólo el 4 % rechazó el tratamiento IV y el 7 %, el tratamiento I. Los tratamientos II (11%) y III (21 %) fueron los más rechazados.

Tabla 4. Análisis sensorial de los fiambres cocidos de cerdo para emparedados con las cuatro formulaciones.

Parámetro\ Tratamiento	I	II	III	IV
Apariencia	5,43 ± 1,32 ^a	4,68 ± 1,33 ^a	5,25 ± 1,14 ^a	4,64 ± 1,63 ^a
Textura	5,14 ± 0,97 ^a	4,25 ± 1,11 ^a	4,75 ± 1,24 ^a	4,79 ± 1,20 ^a
Color	5,50 ± 1,04 ^a	5,04 ± 1,14 ^a	5,21 ± 1,44 ^a	5,18 ± 1,19 ^a



Aroma	5,54 ± 0,88 ^a	5,00 ± 1,19 ^a	5,18 ± 1,47 ^a	5,46 ± 1,00 ^a
Sabor	5,39 ± 1,29 ^a	4,79 ± 1,66 ^a	5,11 ± 1,23 ^a	5,14 ± 1,08 ^a
P	ns	ns	ns	ns

Figura 1. Perfil sensorial de los fiambres con los cuatro tratamientos de salado.

4. Conclusiones

Los resultados del análisis de las propiedades físicoquímicas y los recuentos microbiológicos de los fiambres cocidos de cerdo para emparedados elaborados con los cuatro tratamientos de salado propuestos mostraron que una sustitución del 50% de NaCl por KCl en la elaboración (Tratamiento III), permite obtener productos con características sensoriales muy buenas (medidas a través de parámetros físicoquímicos) y seguros desde el punto de vista bromatológico. El Tratamiento IV, resultó demasiado exigente y mostró diferencias significativas en particular en relación al perfil de textura; de cualquier manera, el panel no entrenado no identificó diferencias en estos atributos. Al mismo tiempo, la reducción en su concentración de sodio lo convierte en un alimento más saludable que su versión original, lo que no sólo resulta beneficioso para los consumidores, sino que también constituye una solución para la industria cárnica en Argentina que debe adaptarse a la nueva legislación.

5. Referencias

- Aburto N. J, Ziolkovska A., Hooper L., Elliott P., Cappuccio F P., Meerpohl J. J. (2013). Effect of lower sodium intake on health: Systematic review and metaanalyses. *BMJ*, 346, f1326.
- Bampi M., Domschke N. N., Schmidt F. C., Laurindo J .B. (2016). Influence of vacuum application, acid addition and partial replacement of NaCl by KCl on the mass transfer during salting of beef cuts. *LWT - Food Science and Technology* 74: 26-33.
- Barbieri G., Barbieri Ge, Bergamaschi M., Francheschini M., Berizi E. (2016). Reduction of NaCl in cooked ham by modification of the cooking process and addition of seaweed extract (*Palmaria palmata*). *LWT - Food Science and Technology*, 73: 700-706.
- Bidlas E., Lambert, R. J. W. 2008. Comparing the antimicrobial effectiveness of NaCl and KCl with a view to salt/sodium replacement. *International Journal of Food Microbiology*, 124(1): 98-102.
- Committee on Strategies to Reduce Sodium Intake (CSRSI). (2010). Food and Nutrition Board, Institute of Medicine (US). Editores: Henry J. E., Taylor C. L., Boon C. S. Strategies to reduce sodium intake in the United States. Washington DC: The National Academies Press.
- Frontela C., López G., Ros G., Martínez C. (2006). Relación entre los parámetros sensoriales, fisicoquímicos e instrumentales en el jamón cocido. *Anales de veterinaria de Murcia*, 22: 67-78.
- García-García E., Totosaus A. (2008). Low-fat sodium-reduced between locust bean gum, potato starch and k-carrageenan by a mixture design. *Meat Science*, 78 (4): 406-413.
- Inguglia E. S., Zhang Z., Tiwari B. K., Kerry J. P., Burgess C. M. (2017). Salt reduction strategies in processed meat products - A review. *Trends in Food Science & Technology* 59: 70-78
- ISO 1442:1997. Meat and meat products. Determination of moisture content (Reference method).
- ISO 2917:1999. Meat and meat products. Measurement of pH. Reference method.
- ISO 4831:2006. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms. Most probable number technique.
- ISO 16649-3:2015. Microbiology of the food chain. Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive *Escherichia coli*. Part 3: Detection and most probable number technique using 5-bromo-4chloro-3-indolyl- β -D-glucuronide.
- Kameník J., Saláková A., Vyskocilová V., Pechová A., Jarustiakov D. (2017). Salt, sodium chloride or sodium? Content and relationship with chemical, instrumental and sensory attributes in cooked meat products. *Meat Science*, 131: 196–202.
- Ley 18284/69 (Dto. 2126/71). Código Alimentario Argentino. Anexo I. 1969 – 1971. Capítulo VI: Alimentos Cárneos y Afines. Última actualización 2014.
- Ley 26905/13. Consumo de sodio. Valores Máximos.
- Mora, L. (2010). Determinación de Compuestos Bioquímicos para el Control de Calidad en la Elaboración de Jamón Cocido y Jamón Curado. Tesis doctoral. Universidad de Valencia. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA). Valencia, España.
- Organización Mundial de la Salud. (2011). Causes of death 2008: data sources and methods. Ginebra.
- Organización Mundial de la Salud. (2013). Proyecto revisado y actualizado. Plan de acción mundial para la prevención y el control de las enfermedades no transmisibles 2013-2020.
- Organización Mundial de la Salud; Food Standards Agency. (2010). Creating an enabling environment for population-based salt reduction strategies. Informe de la reunión técnica conjunta llevada a cabo por la OMS y la Food Standards Agency, Reino Unido, Julio 2010, 1; p. 3-42.
- Qiaofen C., Da-Wen S. (2007). Effect of cooking bag and netting packaging on the quality of pork ham during water cooking. *Meat Science*, 75 (2): 243-247.
- Rohrmann S., Overvad K., Bueno-de-Mesquita H. B., Jakobsen M. U., Egeberg R., Tiónneland A., et al. (2013). Meat consumption and mortality e Results from the European prospective investigation into cancer and nutrition. *BMC Medicine*, 11: 63-75.
- Torres V. O. L., Hernández O. J., Sánchez A. L. T. (2012). Evaluación de los cambios fisicoquímicos producidos por la composición de sal en la formulación de jamón cocido. *Vitae*, 19: S400-S402.

17TCA. Indicador de pH a base de complejos de polieléctrolitos y extracto de antocianinas

pH indicator based on polyelectrolyte complex and anthocyanin extract

Aníbal Slavutsky¹, Natalia Corbalan¹, Gamboni Jimena¹, María Bertuzzi^{1,2}.

1.INIQUI-CONICET. Av. Bolivia 5150, Salta, Salta. 2. Facultad de Ingeniería-Universidad Nacional de Salta. Av. Bolivia, 5150, Salta, Salta. amslavutsky@gmail.com.

Resumen

Los indicadores de pH pueden utilizarse como mecanismo para detectar cambios en la calidad de los alimentos. Los materiales que presentan esta característica pueden utilizarse en envases inteligentes que informen al consumidor, de manera simple y efectiva, los cambios en el producto. Las antocianinas son compuestos capaces de cambiar de color cuando son expuestos a diferentes pH. La pectina y la goma brea son hidrocoloides capaces de formar hidrogeles en los que pueden incorporarse las antocianinas. El objetivo del presente trabajo consistió en formular hidrogeles, a partir de pectina y goma brea, con el agregado de antocianinas extraídas de arándanos. Se formularon xerogeles a partir de soluciones de pectina y goma brea al 3% y 10% de extracto de antocianinas. Se estudió el efecto del pH sobre la coloración de los hidrogeles en todo el rango de pH. Los hidrogeles presentaron una coloración rojiza a pH entre 2-6, tonalidades verdosas a partir de pH 7 y amarillenta por encima de pH 11. Estos cambios en el color se detectan rápida y claramente a simple vista y fueron además cuantificados empleando los parámetros L, a y b. Los resultados indicaron, que los xerogeles desarrollados resultan adecuados como indicadores de pH para su aplicación en envases inteligentes para la industria de alimentos.

Palabras clave: Compuesto de polielectrolito, pectina, goma brea, antocianina.

Abstract

The pH indicators can be used as a mechanism to detect changes in food quality. Materials that present this characteristic can be used in smart packaging that inform to the consumers, in a simple and effective way, the changes in the product. Anthocyanins are compounds that change color when they are exposed to different pH. Pectin and brea gum are hydrocolloids that form hydrogels in which anthocyanins can be incorporated. The objective of this work was to formulate hydrogels based on pectin and brea gum with the addition of anthocyanins extracted from blueberries. Xerogels were formulated using solutions of concentration 3% pectin and 3% brea gum and 10% anthocyanin extract. The effect of pH on the coloration of hydrogels throughout pH range was studied. The hydrogels presented a reddish coloration at pH between 2-6, greenish tones at pH 7 and yellowish above pH 11. These color changes are detected quickly and clearly with the naked eye and were also quantified using L, a and b parameters. The results indicated that the developed xerogels are suitable as pH indicators for their application in smart packaging for the food industry.

Keywords: Polyelectrolyte complex, pectin, brea gum, anthocyanin.

1. Introducción

Los polielectrolitos son macromoléculas que llevan un número relativamente grande de grupos funcionales que presentan carga o la pueden desarrollar según las condiciones del medio. Los complejos de polielectrolitos (PEC) se forman mediante la mezcla de soluciones de polielectrolitos con carga opuesta, en la cual no intervienen agentes quelantes que puedan facilitar la formación de enlaces covalente y llevar a la formación de estructuras reticuladas (Luo y Wang, 2014). Las principales interacciones entre dos polielectrolitos incluyen las interacciones electrostáticas fuertes pero reversibles, interacciones dipolo-dipolo, así como la formación de enlaces puente hidrógeno y enlaces hidrófobos. En contraste con los complejos químicamente reticulados, los PEC, generalmente no presentan toxicidad y se consideran biocompatibles. La mayoría de los polímeros sintéticos son inmunogénicos y la encapsulación de sustancias activas en estos materiales implica condiciones de procesamiento severas que podrían causar la desnaturalización y la inactivación de las sustancias encapsuladas (Irina y Varlamov, 2005). La estabilidad de los PEC podría verse afectada por muchos factores, incluyendo la densidad de cargas, el grado de ionización, el pH del medio de reacción, la concentración de polielectrolitos, la distribución de grupos iónicos, el peso molecular, la relación de mezcla, el orden de la reacción de los polielectrolitos y el proceso de secado (Cooper et al., 2005).

La combinación de quitosano (polication), con diferentes polianiones tales como el alginato, la pectina, el gelano, entre otros, se ha empleado en la formación de PECs para diferentes aplicaciones, como membranas fibrosas, películas, hidrogeles y micro/nanopartículas. Además, los PECs pueden utilizarse en diversas aplicaciones biomédicas y farmacéuticas (Luo y Wang, 2014). Por ejemplo, Maciel et al. (2015), formularon un biosensor de pH, a base de PEC utilizando quitosano y pectina. Tsai et al. (2014) y Coimbra et al. (2011), evaluaron la combinación de quitosano y diferentes polianiones, con el objetivo de obtener PEC para aplicaciones médicas. Amin y Panhuis (2011), obtuvieron películas de PEC a base de quitosano y gelano, mediante inmersión de las películas simples en la solución del polisacárido de carga opuesta, con importantes cambios en las propiedades mecánicas de los films.

Hasta el momento, el quitosano ha sido el polication más utilizado para este tipo de materiales. La goma brea, un polisacárido que se extrae como exudado de la brea, que crece en las regiones áridas y semiáridas de la Argentina y que

fue incorporada en el Código Alimentario Argentino como aditivo alimentario (Resolución Conjunta N° 222/2013 y 331/2013), presenta las características de un polication en ciertas condiciones de pH debido a la fracción proteica (4 al 11%) que contiene, y es posible su aplicación en la formulación de PEC, en combinación con pectina (Slavutsky y Bertuzzi, 2016; Slavutsky et al., 2016).

Los envases inteligentes pueden monitorear las condiciones de los alimentos en tiempo real, para indicar con seguridad sus condiciones de almacenamiento y calidad al consumidor. Estos dispositivos deben ser simples, sensibles y eficientes. En muchos productos alimenticios, los cambios en el pH son indicativos de deterioro químico y microbiológico, por lo tanto, un envase inteligente que pueda indicar cambios en el pH permitiría evaluar la aptitud para el consumo del producto envasado. Se han reportado en la bibliografía sistemas que pueden monitorear, detectar e indicar visualmente los cambios de pH en alimentos, por ejemplo, en carne de peces y chanchos, entre otros (Kuswandi, et al., 2012; Zhang et al., 2014). En general, para la detección de cambios de pH se emplean reactivos químicos como bromocresol púrpura, verde de bromocresol, azul de bromofenol, rojo de clorofenol y rojo de cresol. Sin embargo, en aplicaciones alimenticias, los compuestos químicos sintéticos son difíciles de usar debido a su posible toxicidad y amenaza para la salud humana.

Los colorantes naturales que contienen antocianinas poseen un gran potencial de desarrollo como colorantes indicadores de pH, debido a que su color cambia significativamente a diferentes valores de pH.

Las antocianinas pertenecen a la familia de los flavonoides y son los compuestos químicos responsables de conferir los colores rojo, azul y violeta (Kalt et al., 2003; Wang y Xu, 2007) en hojas, flores y frutos, y son especialmente importantes en frutos como el arándano (Kong et al., 2003). Las antocianinas están basadas químicamente en una única estructura aromática, la cianidina, y todas se consideran derivadas de ella por adición o sustracción de grupos hidroxilo, por metilación o por glicosidación (Figura 1). Se trata de compuestos intensamente coloreados y solubles en agua, además de inocuos, por lo que resultan muy adecuados como colorantes en la industria alimentaria.

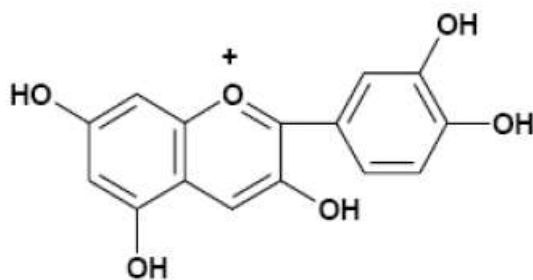


Figura 4. Estructura de la antocianina.

El color de las antocianinas depende del número y orientación de los grupos hidroxilo y metoxilo de la molécula. Incrementos en la hidroxilación producen desplazamientos hacia tonalidades azules mientras que incrementos en las metoxilaciones producen coloraciones rojas. Sin embargo, son sustancias inestables por lo que deben cuidarse las condiciones de procesamiento. Los factores que influyen en la estabilidad de las antocianinas son: el pH, la temperatura, la presencia de oxígeno, la interacción con otros componentes en los alimentos, como el ácido ascórbico, iones metálicos, azúcares y copigmentos. Las antocianinas pueden actuar como indicadores ácido-base, puesto que el color resultante está en función de las estructuras químicas que se encuentran en mayor proporción a un determinado pH. Las variaciones en el pH están acompañadas de cambios notables en su coloración pasando desde el rojo, azul-rojo, verde-azulado a una coloración amarillenta a medida que el pH aumenta.

Kennedy y Waterhouse (2000) afirmaron que las variaciones de color de las antocianinas están asociadas con las diferentes estructuras químicas de las moléculas, que dependen del pH de la solución. En condiciones ácidas (pH 1.0-3.0), las ATH se encuentran predominantemente en la forma del catión flavilio (color rojo), contribuyendo a los colores púrpura y rojo. En el rango de pH 2.0-4.0, las especies azul quinoidal son predominantes. El aumento en el pH a 5.0 y 6.0 da como resultado una disminución en la intensidad del color y la concentración del catión de flavilio, que se hidrata para producir una pseudobase de carbinol incolora y chalcona, de color amarillo, ambas bastante inestables. El equilibrio se desplaza hacia una anhidrobases quinoidal púrpura a pH <7.0 y una anhidrobases ionizada azul intenso a pH <8.0. La reacidificación en cualquier momento durante este proceso a un pH por debajo de 2.0 restablecerá completamente el color original del ATH (Brouillard, 1982; Castañeda-Ovando, et al., 2009).

Teniendo en cuenta estos antecedentes, el objetivo del presente trabajo consistió en formular PECs a base de pectina, goma brea y extracto de antocianinas de arándanos para evaluar su empleo potencial como indicador de pH en envases inteligentes.

2. Materiales y métodos

Materia prima

-Los complejos de polielectrólitos se formularon a base de pectina de bajo metoxilo LM-104-AS (polianión), provista por GELFIX S.A. y goma brea (policatió) recolectada en la región del chaco salteño por comunidades wichis de la zona y donada a nuestro laboratorio. La goma brea (GB) se purificó mediante un proceso simple de solución y secado con una molienda posterior hasta obtener un polvo fino para facilitar su uso.

-Para este estudio, se emplearon arándanos de la variedad Snowchaser procedentes de Méta, en la provincia de Salta. Los frutos fueron almacenados a $5\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de ser utilizados en las diferentes experiencias planificadas. El tiempo transcurrido entre el momento de la recolección y la realización de las experiencias no superó una semana, por lo que los frutos utilizados conservaron adecuadamente sus características.

Obtención de los extractos de antocianina

Los arándanos se lavaron en bandejas bajo un chorro de agua potable, se escurrieron realizando suaves movimientos del recipiente y se trituraron con una procesadora manual (modelo MR 400 Plus, Braun, España). A partir del fruto triturado se realizó la extracción sólido-líquido de antocianinas (ATH). Para ello se empleó como solventes etanol con ácido cítrico al 1%, en una relación masa/volumen de 1/3, a una temperatura de 35°C durante 2 h y 30 min. Luego, se procedió a la centrifugación de las muestras a 3000 rpm durante 15 min. El extracto obtenido (EAC) se concentró en rotavapor a 50°C . Las muestras fueron conservadas a 5°C al abrigo de la luz, hasta su utilización.

Determinación de antocianinas totales

La concentración de antocianina monomérica se determinó empleando el método de pH-diferencial (Giusti y Wrolstad, 2001). Para ello, una alícuota de extracto de antocianina se mezcló con solución tampón a pH 1.0 de cloruro de potasio 0.025 M (ajustado con ácido clorhídrico) y otra con

solución tampón a pH 4.5 de acetato de sodio 0.4 M (ajustado con ácido acético). La diferencia en la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción (510 nm) es proporcional al contenido de antocianinas (Wrolstad, 1993). Posteriormente y con el propósito de efectuar la corrección de la medida debida a la presencia de compuestos degradados o sustancias que interferentes, se midió la absorbancia a 700 nm. Las mediciones se realizaron con un espectrofotómetro (Shimadzu UV-VISIBLE, modelo UV-1603, Japón), contra un blanco de agua ultra pura. La concentración de las antocianinas se expresó como mg cianidina-3-glucósido/100mL de extracto, de acuerdo a la expresión siguiente (Wrolstad et al., 2005) (Ecuaciones 1 y 2):

$$\Delta A = (A_{510} - A_{700})_{pH=1} - (A_{510} - A_{700})_{pH=4.5} \quad (1)$$

$$AT \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{\Delta T.PM.FD.1000}{\epsilon l} \quad (2)$$

Dónde:

AT: Antocianinas totales; ΔA : Cambio en la absorbancia; PM: Masa molecular para cianidina-3-glucósido, 449.2 g/mol; FD: Factor de dilución; ϵ : Coeficiente de extinción molar para cianidina-3-glucósido, 26900; l: Longitud de paso de celda, 1cm; 1000: Factor de conversión de gramos a miligramos

Formulación de los hidrogeles

Los PEC se formularon a base de pectina (polianión) y goma brea (policación). Se prepararon soluciones al 3% de pectina y al 3% de GB. El pH de la solución de GB se ajustó a pH 2.75 con HCl 1N. Ambas soluciones se mezclaron en relación 1:1, y se homogenizaron por agitación. Los hidrogeles obtenidos se centrifugaron y luego se secaron en estufa a 30°C durante 18hs. Para la formulación de los hidrogeles conteniendo el extracto de antocianinas (PEC-ATH), se procedió de manera similar, incorporando en la solución de GB al 3% el EAC al 10%v/v.

Análisis colorimétricos

La obtención del parámetro CIE-Lab, se realizó mediante un sistema de visión computacional (SVC). El mismo consiste de un ambiente cerrado de 40cmx40cmx60cm con paredes de color negro mate que posee un sistema de iluminación led con una potencia de 80 W. Mediante una cámara digital Nikon COOLPIX de 16MPixel se registran

las imágenes de las muestras introducidas en la cámara sellada.

La estandarización del sistema SVC, se realizó empleando los patrones de un colorímetro Color Tec (USA). Las imágenes tomadas se procesaron con el programa Image J (1.51p, National Institutes of Health, USA) obteniéndose los correspondientes histogramas de los parámetros RGB (red, green, blue). Los valores de las medias de los parámetros RGB se convirtieron al sistema CIE-Lab, mediante el empleo del software EASY-RGB. La diferencia observada entre los patrones y sistema EVC fue menor al 1%.

Curva patrón de cambio de color de EAC con el pH

Se realizó a partir de una dilución 10^{-1} del EAC. Las soluciones fueron llevadas a diferentes pH con HCl 0.1N o NaOH 0.2M. Se tomaron fotos y se analizaron los parámetros L, a* y b*.

Análisis del comportamiento de los hidrogeles a diferentes pH

Aproximadamente, 0.1g de xerogeles, se colocaron en 5mL de soluciones buffer a diferentes pH (3-13). A diferentes tiempos, se tomaron fotos y se analizaron los parámetros CIE-Lab, a fin de observar los cambios de color de las soluciones. La diferencia total de color (ΔE^*), se determinó a partir de la siguiente ecuación:

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad (3)$$

Los tres parámetros en el modelo CIE-Lab representan la luminosidad (L^* , $L^*=0$ negro y $L^*=100$ blanca), su posición entre magenta y verde (a^* , valores negativos indican verde mientras valores positivos indican magenta) y su posición entre amarillo y azul (b^* , valores negativos indican azul y valores positivos indican amarillo).

3. Resultados y Discusión

Determinación de antocianinas totales extraídas de arándanos

Actualmente existe interés en las antocianinas debido a sus beneficios potenciales para la salud por su actividad antioxidante y su utilización como colorante natural en la industria alimentaria. Se pueden extraer de vegetales y frutas, como por ejemplo los arándanos. El método de extracción

usualmente empleado es la extracción sólido-líquido. El carácter polar de la molécula de antocianina permite su solubilización en diferentes solventes polares tales como alcoholes, acetona y agua.

El método de extracción debe ser el más adecuado para cada aplicación concreta. Las condiciones de extracción, tales como relación sólido-líquido, temperatura, tiempo, tipo de disolvente y concentración de disolvente influyen en la estabilidad de las antocianinas, así como también en la concentración de antocianinas extraídas (Bridgers et al., 2010). En este trabajo se empleó para la extracción etanol y ácido cítrico como se describió en la sección de materiales y métodos. Una vez obtenidos los extractos se procedió a cuantificarlos obteniéndose un rendimiento de 1,023 mg/L de antocianinas totales. Dicho valor es cercano al reportado por Zapata et al. (2014) para bayas de arándanos frescos, lo que indica que el método empleado permitió una adecuada extracción de las antocianinas con solventes autorizados en alimentos.

Curva patrón obtenida con EAC

En la Figura 2, se observa la variación de color del EAC.

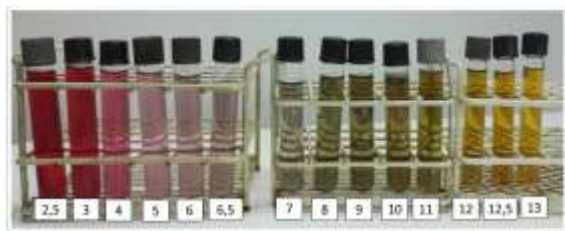


Figura 5. Imagen de las soluciones de EAC frente a diferentes pHs.

En la figura, se puede observar el cambio de color de los extractos de antocianinas en todo el rango de pH. Se diferencian los siguientes grupos: pH = 2.5-4.0, predomina el color rojo; pH = 5.0-6.5, predomina el color violeta; pH = 7.0-11.0, predomina el color verde; pH = 12-13, predomina el color amarillo. Esto cambios, son detectables visualmente. En la Tabla 1, figuran los resultados obtenidos por colorimetría, mediante el sistema SVC.

La luminosidad (L^*) de las soluciones cambió en función del valor del pH. A pH 2 a 3 y 9 a 10, se observa el valor más bajo para el parámetro L^* , lo que indica que a este valor de pH las soluciones tienden a ser más oscuras que las demás. Los valores de a^* y b^* indicaron que el color de las soluciones cambió significativamente en función del valor del pH. Un valor del parámetro a^* por encima de cero indica la tendencia del color a rojo

y por debajo de 0 verde. A medida que el pH aumenta ($pH > 4$), el parámetro disminuye su valor, lo que indica la pérdida de color rojo y el viraje a un color verdoso, hasta un pH de 7. A partir del pH 12, el valor aumenta y luego disminuye levemente.

Tabla 4. Parámetros CIELab de soluciones del EAC.

	L^*	a^*	b^*
pH = 2.5	36.29 ± 0.21	58.61 ± 0.22	35.86 ± 0.13
pH = 3	37.63 ± 0.86	54.13 ± 0.67	21.92 ± 0.25
pH = 4	41.09 ± 0.35	34.79 ± 0.26	0.19 ± 0.22
pH = 5	44.71 ± 0.45	21.51 ± 0.16	-0.71 ± 0.09
pH = 6	42.11 ± 0.57	12.89 ± 0.24	5.80 ± 0.07
pH = 6.5	44.09 ± 0.24	5.12 ± 0.23	15.99 ± 0.06
pH = 7	44.07 ± 0.42	0.48 ± 0.11	35.48 ± 0.34
pH = 8	41.95 ± 0.27	-4.83 ± 0.11	44.09 ± 0.11
pH = 9	38.27 ± 0.20	-2.89 ± 0.28	46.69 ± 0.10
pH = 10	38.41 ± 0.21	1.94 ± 0.08	46.37 ± 0.09
pH = 11	45.73 ± 0.30	5.87 ± 0.33	43.77 ± 0.39
pH = 12	41.40 ± 0.20	18.78 ± 0.24	49.67 ± 0.10
pH = 12.5	47.36 ± 0.23	16.80 ± 0.16	49.11 ± 0.11
pH = 13	44.81 ± 0.07	13.14 ± 0.05	50.91 ± 0.70

Se puede hacer un análisis similar con el parámetro b^* , que indica una tendencia de color a amarillo cuando su valor va por encima de cero y a azul para valores bajo el cero. A pH entre 4-6.5, el parámetro presenta valores cercanos a 0, pero a partir del pH 7, el parámetro se incrementa de manera constante, lo que indica el viraje a un color amarillo.

El análisis de los parámetros CIELab, son consistentes con lo observado visualmente.

Eficiencia de respuesta de colorimétrica

En la Tabla 2, se observa el color presentado por el xerogel control y por los geles luego de ser hidratados a diferentes pH durante 1 hora. Como se observa, el pH no afecto al color de geles, indicando que el mismo no presenta cambios de color frente a los diferentes pH estudiados.

Tabla 5. Parámetros CIELab del xerogel control y de los geles control frente a diferentes pH

	L	a^*	b^*
Xerogel	74.77 ± 1.78	0.48 ± 0.43	7.97 ± 1.99
pH=3	74.97 ± 0.78	-0.33 ± 0.54	8.15 ± 1.70
pH = 7	69.81 ± 0.63	-0.88 ± 0.06	7.38 ± 0.48
pH = 9	72.11 ± 0.91	-1.06 ± 0.09	6.17 ± 0.40
pH = 13	73.63 ± 0.14	-4.17 ± 0.10	7.02 ± 1.17

Los resultados indican que los geles presentan una elevada luminosidad, con predominancia de un color amarillento.

Los xerogeles (geles deshidratados), presentaron valores de 54.50 ± 1.62 , 36.47 ± 1.38 , 6.29 ± 0.57 , para los parámetros L^* , a^* y b^* , respectivamente. Lo que indica, que son más oscuros que los geles control y con una fuerte coloración rojiza.

La respuesta colorimétrica del indicador de pH (PEC-ATH) se evaluó mediante la inmersión de los xerogeles en diferentes soluciones tampón (pH 3 a 13.0) y se evaluó el cambio de coloración a distintos períodos de tiempo (30, 60 y 120 minutos). A simple vista se pudo observar la predominancia de una coloración rosada a pH ácidos, una coloración verde azulada a pH entre 7-11 y amarillenta a $\text{pH} \geq 11$. Las Tabla 3, 4 y 5 muestran los valores de los parámetros L^* , a^* , b^* de los PEC-ATH a diferentes pH a los 30, 60 y 120 minutos respectivamente. En la Tabla 5 se incluye además los valores de ΔE^* obtenidos a 120 minutos, ya que una vez cumplido ese lapso de tiempo se observó que el hidrogel había tomado una coloración uniforme en toda su superficie. Por ello, se determinó en este punto las diferencias de coloración existente entre los diferentes pH para los geles.

Tabla 3. Parámetros a^* , b^* , L^* de los PEC-ATH, obtenidos a los 30 min a diferentes condiciones de pH.

pH	L		a^*		b^*	
3	42,69	$\pm 1,48$	48,75	$\pm 1,64$	15,46	$\pm 0,59$
4	46,43	$\pm 0,37$	47,38	$\pm 0,98$	21,64	$\pm 0,46$
5	42,90	$\pm 0,30$	40,78	$\pm 0,20$	17,59	$\pm 0,46$
6	52,65	$\pm 0,13$	38,43	$\pm 1,05$	17,23	$\pm 0,26$
7	41,15	$\pm 0,35$	12,41	$\pm 0,97$	20,72	$\pm 0,18$
9	50,05	$\pm 0,25$	34,33	$\pm 1,09$	18,15	$\pm 0,34$
10	48,72	$\pm 0,14$	34,17	$\pm 0,63$	19,50	$\pm 0,11$
13	48,57	$\pm 1,11$	12,22	$\pm 0,69$	41,21	$\pm 1,80$

Tabla 4. Parámetros a^* , b^* , L^* de los PEC-ATH, obtenidos a los 60 min a diferentes condiciones de pH.

pH	L		a^*		b^*	
3	62,36	$\pm 0,19$	24,57	$\pm 0,24$	18,76	$\pm 0,39$
4	57,13	$\pm 0,72$	27,63	$\pm 0,40$	22,18	$\pm 0,41$
5	61,17	$\pm 0,51$	17,73	$\pm 0,47$	22,36	$\pm 0,23$

pH	L		a^*		b^*		ΔE^*
3	59,67	$\pm 1,48$	46,24	$\pm 0,60$	17,69	$\pm 0,13$	21,91
4	50,49	$\pm 0,37$	44,97	$\pm 0,92$	22,64	$\pm 0,57$	13,07
5	59,02	$\pm 0,30$	31,87	$\pm 1,76$	17,87	$\pm 2,14$	20,3993
6	67,80	$\pm 0,13$	28,46	$\pm 1,27$	11,46	$\pm 4,23$	29,4367
7	56,83	$\pm 0,35$	8,70	$\pm 0,43$	31,28	$\pm 0,38$	47,4554
9	64,88	$\pm 0,25$	22,58	$\pm 0,51$	18,35	$\pm 0,39$	22,39
10	55,16	$\pm 0,14$	27,57	$\pm 1,00$	20,40	$\pm 0,19$	23,62
13	43,62	$\pm 1,11$	6,93	$\pm 0,30$	41,69	$\pm 0,40$	53,65

6	62,41	$\pm 0,61$	11,81	$\pm 0,75$	26,28	$\pm 0,16$
7	63,69	$\pm 0,82$	11,11	$\pm 0,08$	31,38	$\pm 0,91$
9	63,67	$\pm 0,35$	10,34	$\pm 0,52$	25,69	$\pm 0,23$
10	57,62	$\pm 1,33$	12,98	$\pm 0,19$	32,88	$\pm 0,10$
13	57,95	$\pm 0,26$	6,71	$\pm 1,77$	46,52	$\pm 0,26$

Tabla 5. Parámetros a^* , b^* , L^* y ΔE^* de los PEC-ATH, luego de 120 min en diferentes condiciones de pH.

El color del indicador tendió a una coloración más verdosa a valores de entre 7 y 10 y finalmente se observó que a pH 13 la coloración predominante fue la amarilla. Esta observación es coherente con los valores obtenidos tanto para el parámetro a^* en donde se observa que, en todos los tiempos se alcanzó el mínimo valor de este parámetro al mayor pH ensayado. El análisis del parámetro b^* refuerza esta observación ya que alcanzó los máximos valores a $\text{pH} = 13$ lo que indica una tendencia hacia el color amarillo. En la figura 3, para facilitar la interpretación de los resultados, se resume de manera gráfica los cambios de coloración asociados a la variación del parámetro a^* , a los 120 minutos en todo el rango de pH ensayado. La tendencia del cambio en los parámetros a^* y b^* , es coincidente con lo observado en las soluciones de los extractos. Al comparar la Tabla 1 y la Tabla 5, se observa la caída del parámetro a^* y el aumento del parámetro b^* , a medida que aumenta el pH.

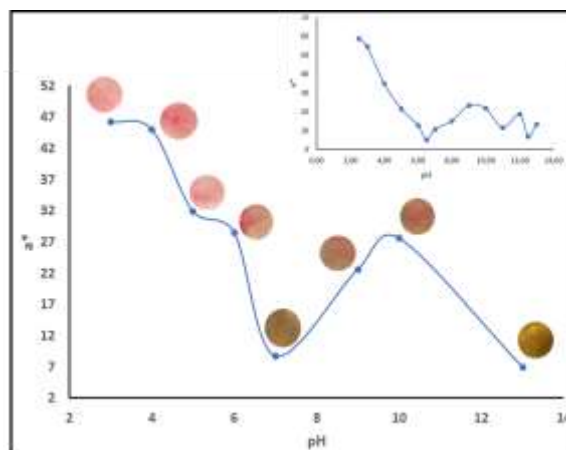


Figura 3. Variación del parámetro colorimétrico a^* del sistema CIE-LAB y los cambios visuales en el color de los hidrogeles-PEC en función del pH.

El gráfico de la esquina superior izquierda de la Figura 3 corresponde a las variaciones del parámetro a^* en las soluciones del extracto de antocianina. Como se puede observar el comportamiento de la variación del parámetro es el mismo que el observado para las antocianinas contenidas en el hidrogel. Esto indica que en esta matriz polimérica no produce interacciones que

causen un cambio en el comportamiento de la coloración de las antocianinas frente a los cambios de pH.

A los 120 minutos (Tabla 5) se puede observar que el cambio de color más marcado se produjo a pH 7 y 13, con valores de ΔE^* casi dos veces mayores que en los otros pH ensayados.

Este cambio puede ser detectado a simple vista (Figura 4), observándose que a estos pH se produce el cambio de coloraciones rojizas a verdosas al alcanzarse un pH de 7 y luego una marcada coloración amarillenta a pH 13.



	pH=3	pH=5	pH=7	pH=9	pH=13
ΔE^*	21,91	20,3993	47,4554	23,62	53,65

Figura 4. Variación en la coloración de los hidrogeles-PEC(ΔE^*) en respuesta a diferentes condiciones de pH: (a) 3.0; (b) 5.0; (c) 7.0; (d) 9.0; (e) 13.0.

4. Conclusiones

En este trabajo se diseñó un indicador de pH basado en goma brea, pectina y antocianinas. Los resultados obtenidos permitieron comprobar que el sistema desarrollado respondió eficazmente a los cambios de pH. El indicador presentó una variación de coloración bien marcada en todo el rango de pH, observándose un color rosado a pH ácido, verde azulado a pH neutro y amarillo a pH básico. La incorporación de las antocianinas al PEC no produjo cambios en el comportamiento del indicador frente a las variaciones de pH, por lo que la elección de ambos polímeros es adecuada para la formulación de PEC-ATH sensibles a cambios de pH. Por otro lado, se comprobó que los cambios de coloración del indicador en los geles pueden ser fácilmente detectables por el ojo humano (elevados valores de ΔE^*).

Teniendo en cuenta estos resultados, el PEC-ATH formulado podría utilizarse en envases inteligentes para sensar cambios de pH en el alimento, brindando información sobre la calidad y seguridad del producto alimenticio, durante su transporte y almacenamiento.

5. Referencias

Amin, K.A.M.; Panhuis, M. In Het. (2011). *Polyelectrolyte complex materials from chitosan*

and gellan gum. *Carbohydrate Polymers*, 86(1), 352–358.

Brouillard, R. (1982). *Anthocyanins as food colours*. New York, NY: Academic Press Inc (Chapter 1).

Castañeda-Ovando, A.y otros cuatro autores. (2009). *Chemical studies of anthocyanins: A review*. *Food Chemistry*, 113, 859–871.

Coimbra, P. y otros 6 autores. (2011). *Preparation and chemical and biological characterization of a pectin/chitosan polyelectrolyte complex scaffold for possible bone tissue engineering applications*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 48(1), 112–118.

Cooper, C.L. y otros tres autores. (2005). *Polyelectrolyte-protein complexes*. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 10(1-2), 52–78.

Giusti, M.M.; Wrolstad, R.E. (2001). *Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy*. Wrolstad. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. New York: Wiley.

Il'ina, A.V.; Varlamov, V.P. (2005). *Chitosan-based polyelectrolyte complexes: A review*. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 41(1), 5–11.

Kalt, K.y otros cinco autores. (2003). *Oxygen radical absorbing capacity, anthocyanin and phenolic content of highbush blueberries (Vaccinium corymbosum L) during ripening and storage*. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 128, 917-923.

Kennedy, J.A.; Waterhouse, A.L. (2000). *Analysis of pigmented high-molecular mass grape phenolics using ion-pair, normal-phase high-performance liquid chromatography*. *Journal of Chromatography A*, 866, 25–34.

Kong, J.M. y otros cuatro autores. (2003). *Analysis and biological activities of anthocyanins*. *Phytochemistry*, 64, 923-933.

Kuswandi, B. y otros cinco autores. (2012). *A novel colorimetric food package label for fish spoilage based on polyaniline film*. *Food Control*, 25, 184-189.

Luo, Y.; Wang, Q. (2014). *Recent development of chitosan-based polyelectrolyte complexes with natural polysaccharides for drug delivery*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 64, 353–367.

Maciel, V.B.V.; Yoshida, C.M.P.; Franco, T.T. (2015). *Chitosan/pectin polyelectrolyte complex as a pH indicator*. *Carbohydrate Polymers*, 132, 537–545.

Slavutsky, A. M., Bertuzzi, M. A. (2016) *Obtención de hidrogeles a partir de pectina, goma brea y montmorillonita*. The Journal of the Argentine Chemical Society, 103(1-2),

Slavutsky, A. M. Bravo, J. M., Bertuzzi, M. A. (2016) Argentina. Obtención de complejos de polielectrólitos a base de pectina y goma brea. In VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, by Rosati, A.E.L. y Robledo, C.W, pp. 441. Ministerio de Ciencia y Tecnología de la provincia de Córdoba. Cordoba, Argentina.

Tsai, R.-Y. y otros 5 autores. (2014). *Chitosan/pectin/gum Arabic polyelectrolyte complex: Process-dependent appearance, microstructure analysis and its application*. Carbohydrate Polymers, 101, 752–759.

Wang, W.D.; Xu, S.Y. (2007). Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. Journal of Food Engineering, 82, 271-275.

Wrolstad, R.E. (1993). *Color and pigment analyses in fruit products*. Agricultural experiment station, Oregon State University, Station Bulletin 624, 1993.

Wrolstad, R.E.; Durst, R.W.; Lee, J. (2005). *Tracking colour and pigment changes in anthocyanins products*. Food Science & Technology 16, 423–428.

Zapata, Luz M. y otros 5 autores. (2014). *Optimización de la extracción de antocianinas de arándanos*. Ciencia, Docencia y Tecnología, 25 (49), 166-192.

Zhang, X.; Lu, S.; Chen, X. (2014). *A visual pH sensing film using natural dyes from Bauhinia blakeana Dunn*. Sensors and Actuators, B: Chemical, 198, 268–273

18TCA. Formulación y caracterización de películas compuestas de almidón y pectina

Formulation and characterization of starch-pectin composed films

Jimena Gamboni¹, Anibal Slavutsky¹, María Bertuzzi^{1,2}.

1. INIQUI (CONICET), 2. CIUNSa, Facultad de Ingeniería-Universidad Nacional de Salta (UNSa) Av. Bolivia 5150 - A4408FVY- Salta - Argentina. E-mail: jimenagamboni@gmail.com

Resumen

El método más empleado a nivel laboratorio para la elaboración de películas comestibles es el casting. El escalado a nivel industrial de este proceso, requiere de una reducción del tiempo de secado, que implica necesariamente un aumento de la temperatura de trabajo. El almidón presenta una gran capacidad para formar películas, sin embargo, las películas obtenidas exhiben algunos inconvenientes derivados de su higroscopicidad y los fenómenos de retrogradación, que afectan las propiedades mecánicas de la película, sus propiedades de barrera y su procesabilidad durante el secado. Existen diferentes estrategias para mejorar las propiedades de las películas, siendo una de ellas la mezcla de polímeros. En este trabajo se formularon películas compuestas de almidón-pectina plastificadas con glicerol. Se analizó el efecto de la relación de almidón y pectina en la formulación y el efecto de las condiciones de secado sobre las propiedades finales de las películas. Se observó que las películas compuestas almidón-pectina son más flexibles que las películas de almidón y de pectina solos. Además, las propiedades mecánicas de las películas formuladas con relación 1:1, mejoran al aumentar la temperatura de secado, contrariamente al comportamiento de las películas simples de almidón y de pectina. Los resultados indican que la formulación de películas compuestas permite obtener películas con mejores propiedades mecánicas y procesabilidad en ambientes de secado más severos que las películas de almidón y de pectina solos.

Palabras clave: películas compuestas, almidón, pectina, secado.

Abstract

Edible films are commonly produced in the laboratory by the casting method. The scaling up of this process to the industrial level requires a reduction in drying times that necessarily results in an increase of drying air temperature. Starch is a polysaccharide that has a great capacity to form films. However, these films exhibit some drawbacks derived from their hygroscopicity and the retrogradation phenomena, which affect the mechanical properties of the film, its barrier properties and its processability during drying. There are different strategies to improve the films properties; one of them consists of mixing polymers. In this work, starch-pectin composite films plasticized with glycerol were formulated. The effect of the ratio between starch and pectin in the formulation and the drying conditions on the final properties of the films was analyzed. It was observed that the starch-pectin composite films are more flexible than pectin films and starch films. Besides, the mechanical properties of 1:1 composite films improve with increasing drying temperature, contrary to the behavior of starch films and pectin films. The results indicate that the formulation of composite films allows obtaining better film mechanical properties and processability at high temperature than those presented by starch film and pectin films separately.

Keywords: composed films, starch, pectin, drying.

1. Introducción

En las últimas décadas, ha crecido el interés científico y comercial en los biopolímeros para aplicaciones en las que los polímeros sintéticos tradicionalmente han sido los materiales de elección. El mayor interés en esta nueva tecnología fue impulsado por la necesidad de limitar el uso de materiales no biodegradables para disminuir el volumen de materiales de desecho y la necesidad de utilizar materias primas renovables en lugar de aquellas de origen fósil.

Uno de los polímeros ampliamente utilizados en la formulación de películas comestibles es el almidón, debido a su alta disponibilidad a partir de fuentes renovables y de bajo costo y su gran capacidad para formar películas transparentes, insípidas e inodoras, con muy buenas propiedades de barrera al oxígeno. Sin embargo, las películas de almidón exhiben algunos inconvenientes derivados de su higroscopicidad y los fenómenos de retrogradación que afectan las propiedades mecánicas de la película, sus propiedades de barrera (Cano *et al.*, 2014; Jiménez, Fabra *et al.*, 2012a) y su procesabilidad durante el secado (Gamboni *et al.*, 2015).

El método más empleado a nivel laboratorio para la elaboración de películas comestibles es el proceso de casting, que consiste en la obtención de una solución de biopolímero que se vierte sobre una superficie sólida para la posterior evaporación del solvente. En general, el proceso de secado se realiza en ambientes controlados a temperaturas que no superan los 45°C y tiempos que pueden alcanzar las 24 horas. El escalado a nivel industrial de este proceso, requiere de una reducción en los tiempos de secado que implica necesariamente un aumento de la temperatura de trabajo.

Las propiedades de las películas poliméricas son fuertemente influenciadas por su composición, su historial de procesamiento y el efecto que el procesamiento tiene en la microestructura de la muestra. El secado de películas de almidón a temperaturas superiores a los 50°C resulta dificultoso. Durante el proceso, la superficie de las películas sufre contracciones que derivan en grietas y heterogeneidad en la superficie al final del secado. Por otro lado, se han reportado una disminución de la resistencia mecánica de las películas al aumentar la temperatura de trabajo (Gamboni *et al.* 2015).

En general, para mejorar las propiedades funcionales de las películas y adaptarlas a los requerimientos de determinadas aplicaciones, existen diferentes estrategias tales como la

modificación química del polímero, la adición de compuestos hidrófobos, la combinación de polímeros, el desarrollo de sistemas multicapas, la producción de materiales compuestos con materiales de relleno, entre otras.

En este sentido, la formulación de películas compuestas con mezclas de polímeros con buenas propiedades filmogénicas representa una posibilidad para mejorar las propiedades funcionales de las películas y la procesabilidad de las mismas.

La pectina es un polisacárido comestible soluble en agua formado por cadenas de ácido D-galacturónico con sus grupos carboxilo parcialmente metoxilados. Estos grupos carboxilo, le otorgan un carácter ácido (polianión). Se usa ampliamente en la industria alimentaria y también se ha investigado su potencial para aplicaciones biomédicas (Nishijima *et al.*, 2009). La pectina es un polisacárido muy empleado como aditivo en una gran variedad de productos alimenticios debido a su carácter gelificante y en la industria farmacéutica en la formulación de cápsulas. Sin embargo, el principal obstáculo que limita su uso en la formulación de películas es su solubilidad en ambientes de alto contenido de humedad. Para superar este inconveniente, varios investigadores estudiaron mezclas de pectina con otros polímeros para desarrollar materiales compuestos (Liu *et al.*, 2007; Lam y Paulsen, 2008). Se han llevado a cabo una serie de estudios sobre películas de pectina durante las décadas de 1930 a la de 1950 (Schultz *et al.*, 1949; Miers *et al.*, 1953; Swenson *et al.*, 1953). En general, estos estudios se han centrado en las pectinas de diferentes grados de esterificación y el uso de cationes polivalentes como el calcio. Schultz *et al.* (1949) prepararon películas a partir de pectina de bajo metoxilo (<11%) y encontraron que la resistencia a la tracción (TS) disminuye al aumentar el nivel de metoxilo. Por otro lado, se han llevado a cabo estudios sobre propiedades termomecánicas, microestructurales y viscoelásticas de películas hechas de mezclas de pectina y almidón (Fishman *et al.*, 2000) y pectina y alcohol polivinílico (Fishman y Coffin, 1998). Estos estudios se han centrado en la preparación de películas con buenas propiedades mecánicas y buena resistencia a pHs ácidos para la liberación de drogas en el organismo humano.

Este trabajo, tiene como objetivo evaluar el efecto de la combinación de almidón y pectina en la formulación de películas comestibles y analizar el efecto de las condiciones de secado sobre las propiedades finales de las mismas. Se evaluará el efecto sobre las propiedades mecánicas y además la mejora en la procesabilidad de las películas al

secarlas a temperaturas mayores a las convencionales.

2. Materiales y métodos

2.1 Preparación de películas

Las soluciones filmogénicas se formularon con un porcentaje en peso del 5% de polímero usando glicerol (Mallinckrodt) como plastificante en una concentración del 20% en peso, respecto al contenido de polisacárido. Las soluciones se prepararon mezclando soluciones de pectina de bajo metoxilo (Gelfix, Argentina) con soluciones de almidón (Maizena, Unilever Argentina) previamente gelatinizado. Cada dispersión de almidón fue gelatinizada a 80°C en un baño termostático durante 15 minutos. Las soluciones de almidón y pectina obtenidas se colocaron durante una hora en un baño ultrasónico a 60°C a fin de eliminar las burbujas de aire. Ambas soluciones se mezclaron de acuerdo a las siguientes proporciones de polisacáridos A:P, a saber: 100:0; 25:75; 50:50; 75:25; 0:100 (Tabla 1). Las mezclas se agitaron durante una hora adicional. Finalmente, se vertieron 10 g de solución en placas de Petri y se secaron en ambiente de temperatura controlada.

Con el fin de evaluar el efecto de la composición sobre las propiedades funcionales de las películas, la serie completa de proporciones se secó a una temperatura de 30°C. Por otro lado, para evaluar el efecto de la temperatura de secado, las películas de almidón, pectina y las películas con una proporción 50:50 se secaron a 30, 50 y 70°C.

2.2 Caracterización de las películas

Espesor de las películas

El espesor de las películas se determinó usando un espesímetro analógico (Digimess, Buenos Aires, Argentina). Los valores de espesor usados fueron el valor promedio seis mediciones.

Solubilidad de las películas en agua.

Para determinar la solubilidad de las películas en agua se introdujo 100 mg de película seca en 50 ml de agua destilada y se mantuvo por un periodo de 24 horas a 30°C. Luego, las películas se separaron y se secaron nuevamente registrando el peso final de la película. El valor del porcentaje de solubilidad se determinó de acuerdo a la ecuación (1):

$$S = \frac{m_i - m_f}{m_i} 100\% \quad (1)$$

Donde m_i y m_f son la masa inicial y la masa final respectivamente.

Capacidad de sorción a 63% HR

Se determinó la capacidad de sorción de las muestras de cada película mediante el método gravimétrico. Se establecieron ambientes de humedad relativa constante para una actividad de agua (a_w) de 0.63 (solución saturada de NaBr) (Spiess y Wolf, 1983). Las muestras se cortaron en rectángulos de 2 cm² y se mantuvieron almacenadas durante una semana en desecador con sílica gel. Los ensayos de absorción se determinaron por triplicado y fueron realizados a 30°C, los resultados se expresan en g agua/ 100g de muestra seca.

Permeabilidad al vapor de agua

La determinación de la permeabilidad al vapor de agua de las diferentes películas se realizó de acuerdo a la metodología descrita en la norma ASTM E 96. Previo al análisis, las películas fueron acondicionadas por 72 horas a 25°C y 53% de humedad relativa (Solución saturada de Mg(NO₃)₂). Se estudió la permeabilidad en un rango de actividad de agua (a_w) de 0 a 1. Se registró la pérdida de peso y los datos obtenidos fueron graficados en función del tiempo. A partir de la regresión lineal de los datos obtenidos, se calculó la pendiente (G) y a partir del área de la celda se obtuvo la densidad de flujo de vapor de agua (WVTR) (Ecuación 2). La permeabilidad al vapor del agua medida (P) se calculó según la Ecuación 3:

$$WPR = \frac{G}{A} \quad (2)$$

$$P = \frac{a (WVTR \times L)}{(p_{w_0} - p_{w_2})} \quad (3)$$

Donde L es el espesor de la película, A es el área expuesta, p_{w_2} y p_{w_0} son la presión parcial del vapor de agua en la superficie de la película afuera de la celda y en la superficie del agua destilada, respectivamente. Finalmente, a es una constante de conversión de unidades.

Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas de las películas se determinaron de acuerdo a la norma ASTM D882 empleando un texturómetro Brookfield (Massachusetts, USA) en ensayos de tensión. Se emplearon muestras de películas de 25 mm de ancho y 70 mm de largo, acondicionadas durante una semana a 25°C y 53% HR. Se reportaron valores de fuerza y elongación durante el ensayo realizado con una velocidad constante de desplazamiento de 20 mm min⁻¹ hasta la ruptura. Se determinaron los valores de resistencia a la tracción, módulo elástico y porcentaje de elongación. El ensayo se realizó por triplicado.

2.3 Análisis estadístico

Se empleó el software Graphpad Prism (versión 5.01) para calcular el análisis de varianza (ANOVA) y se realizó una prueba Tukey ($p \leq 0.05$) para determinar las diferencias significativas de todas las propiedades de las películas.

En la Tabla 1, se observa la nomenclatura empleada para cada muestra.

Tabla 1. Composición de las mezclas de las soluciones formadoras de películas

Código	A	A25P75	A50P50	A75P25	P
Almidón (%)	100	25	50	75	0
Pectina (%)	0	75	50	25	100

3. Resultados y Discusión

Se formularon películas de almidón, pectina y películas compuestas de almidón-pectina.

La serie de películas compuestas fue secada a 30°C. Todas las películas presentaron aspecto homogéneo. En la Tabla 2 se detallan los valores obtenidos para las propiedades de barrera al vapor de agua de las películas. Se observa que la permeabilidad de las películas de pectina es menor a la presentada por las películas de almidón. No se observaron cambios significativos entre los valores de permeabilidad de las películas compuestas. Sin embargo, la permeabilidad de las películas A50P50 presenta el menor valor de permeabilidad.

La permeabilidad, se puede considerar el producto de la difusividad por la solubilidad suponiendo válidas las leyes de Fick y Henry en el material (ASTM E96). La solubilidad, se expresa en términos de la capacidad de sorción que presentan las películas (Larotonda et al., 2005). A medida que aumenta la solubilidad de los films, se observa una disminución de la velocidad de difusión de las moléculas de agua a través de la película, debido a que se produce una modificación de la estructura de la matriz causada por el hinchamiento de las muestras. Debido a esto, la permeabilidad que presenta una película, está sujeta al comportamiento fenomenológico de cada muestra, que depende de la composición, la microestructura y la forma y velocidad del secado.

Con respecto al comportamiento frente a la sorción a una actividad de agua del 63%, no se observaron diferencias significativas entre la capacidad de sorción de las películas A, A25P75 y A75P25, mientras que las películas A50P50 tienen una capacidad de sorción intermedia, entre las películas de pectina y almidón.

La solubilidad de las películas aumenta conforme aumenta el contenido de pectina en la formulación. Los aumentos en la solubilidad de las películas compuestas pueden atribuirse a la influencia de la pectina, dado que es altamente hidrofílica y es completamente soluble en las condiciones ensayadas.

Tabla 2. Propiedades funcionales de las películas secadas a 30°C.

Muestra	Permeabilidad $\times 10^{-10}$ (g/m.Pa.s)	Sorción (g agua/ 100g de muestra seca)	Solubilidad (%)
A	4,95±0,175 ^a	1,48±0,31 ^a	15,35±0,24 ^a
A25P75	5,68±0,151 ^a	1,63±0,10 ^a	36,61±0,57 ^{ab}
A50P50	3,73±0,298 ^b	2,66±0,03 ^b	47,35±1,49 ^b
A75P25	3,81±0,400 ^b	1,92±0,06 ^a	43,64±7,33 ^b
P	3,09±0,205 ^b	3,93±0,53 ^c	100

Coffin y Fishman (1994) reportaron que las películas de pectina y pectina/almidón exhibieron valores promedio de resistencia a la tracción de 23,5 MPa y valores de elongación de entre 1 y 3% sin plastificante. Las propiedades mecánicas de las películas estudiadas se detallan en Tabla 3. Las películas de almidón y pectina puros muestran comportamientos muy similares en los ensayos de tracción. No se observan diferencias significativas entre la resistencia mecánica de ambas películas, mientras que las películas de almidón presentan mayor módulo elástico y menor porcentaje de elongación que las películas de pectina. Las propiedades mecánicas de las películas compuestas no presentan diferencias significativas en ninguno de sus parámetros. La resistencia mecánica de las mismas es aproximadamente un 50% menor que la de los polímeros puros. Sin embargo, el porcentaje de elongación de las películas compuestas alcanza valores cercanos al 30%.

Tabla 3. Propiedades mecánicas de las películas secadas a 30°C.

Muestra	Resistencia Mecánica (MPa)	Módulo Elástico (MPa)	Elongación (%)
A	22,98±1,39 ^a	8,51±1,01 ^a	3,53±0,25 ^a
A25P75	9,92±1,00 ^b	0,88±0,20 ^b	27,27±2,63 ^b
A50P50	9,95±0,48 ^b	0,82±0,11 ^b	27,33±2,11 ^b
A75P25	8,20±0,53 ^b	1,16±0,25 ^b	26,35±5,56 ^b
P	21,98±1,45 ^a	5,1±0,18 ^c	8,88±7,87 ^c

Estos resultados pueden atribuirse a las propiedades estructurales de las moléculas de almidón y pectina y la interacción entre ambos polímeros con el glicerol. La pectina es fácilmente soluble en agua y es amorfa en estado sólido. Las moléculas de pectina se extienden casi por completo tanto en solución como en estado sólido. Por lo tanto, la extensión del material se produce más bien por deslizamiento de las cadenas una al lado de la otra. La mezcla de los polímeros genera una reducción en la cohesión molecular, en

relación a la de los polímeros puros, que se ve reflejada en una mayor flexibilidad y una menor resistencia a la tracción. De acuerdo a Bertuzzi *et al.* (2012), las moléculas del plastificante compiten por las uniones puente hidrógeno que existen entre las cadenas del polímero. El glicerol tiende a interactuar más fácilmente con la pectina amorfa que con el almidón, evitando la retrogradación del almidón (Coffin, Fishman, 1993). De esta manera las películas compuestas almidón/pectina resultan más plastificadas y por lo tanto son más flexibles.

Para evaluar el efecto de la temperatura de secado en las propiedades de las películas, se secaron películas de A, P y A50P50 a 30, 50 y 70°C.

Todas las películas obtenidas a las diferentes temperaturas presentaron un aspecto homogéneo, excepto las películas de almidón secadas a 70°C. En este último caso se observaron grietas y roturas en la superficie y en algunos casos las muestras debieron ser descartadas.

Los datos de la Tabla 4, indican que la temperatura de secado no tiene efecto sobre los valores de permeabilidad obtenidos para las películas A y P. Mientras que para las películas A50P50 se observa un aumento de la permeabilidad cuando aumenta la temperatura de secado.

Tabla 4. Propiedades funcionales de las películas en función de la temperatura de secado.

	A	A50P50	P
Permeabilidad x10⁻¹⁰ (g/m.Pa.s)			
30°C	4,95±0,175 ^a	3,73±0,298	3,09±0,205 ^a
50°C	3,56±0,364	5,39±0,154	4,13±0,775 ^a
70°C	4,82±0,172 ^a	6,69±0,479	3,14±0,461 ^a
Sorción (g agua/ 100g de muestra seca)			
30°C	1,48±0,305 _a	2,66±0,031	3,93±0,53
50°C	2,23±0,29 ^a	6,72±0,36 ^a	5,55±0,24
70°C	4,97±0,17	8,36±0,66 ^a	6,68±0,06
Solubilidad (%)			
30°C	15,35±0,24	47,35±1,49 _a	100
50°C	8,57±0,72 _a	32,19±0,47 _a	100
70°C	8,92±0,23 _a	39,62±7,402 _a	100

El aumento de la temperatura de secado genera un aumento en la capacidad de sorción en todas las muestras estudiadas. La capacidad de sorción de las muestras A50P50 resulta ser más sensibles al aumento de temperatura. La solubilidad de las películas A disminuye al aumentar la temperatura, mientras que en las películas P y A50P50 no

existen diferencias significativas entre los valores obtenidos para las temperaturas estudiadas.

En la Figura 1, se observan los resultados experimentales obtenidos para las propiedades mecánicas de las películas obtenidas con las diferentes formulaciones. Los datos indican que el comportamiento de las películas A y P es muy similar, observándose que la resistencia a la tracción y el módulo de elasticidad de ambas muestras disminuyen al aumentar la temperatura de secado. La resistencia a la tracción decrece desde un valor promedio de 22,5 MPa hasta 12,7 MPa.

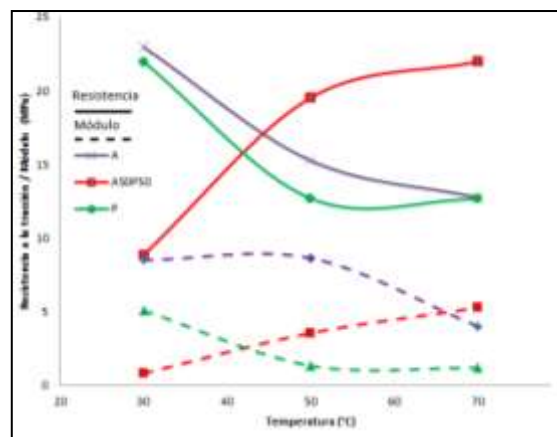
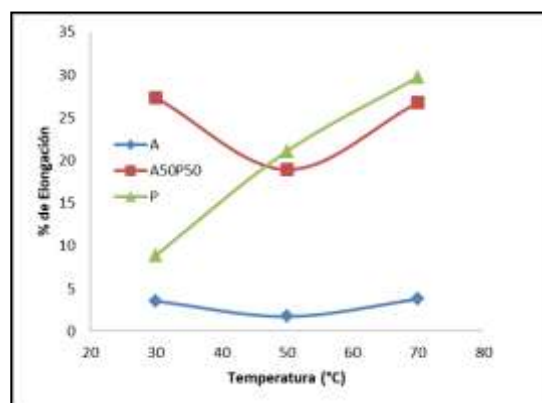


Figura 1. Resistencia a la tracción y Módulo elástico de las películas en función de la temperatura de secado.

Contrariamente, las películas A50P50 exhiben un aumento en la resistencia a la tracción desde 8,88 MPa a 22MPa, acompañado de un aumento en el módulo de elasticidad.

Analizando la Figura 2, se observa que el porcentaje de elongación de las muestras A no se ve afectado por el aumento de temperatura de operación. Por otro lado, el porcentaje de elongación de las muestras P crece al aumentar la temperatura. Las muestras A50P50 presentan un valor mínimo de elongación cuando son secadas a



50°C.

Figura 2. Porcentaje de elongación de las películas en función de la temperatura de secado

Valores distintos de velocidad de secado pueden generar matrices con diferentes estructuras. A 30°C, el tiempo de secado y por lo tanto, el tiempo de reordenamiento de las cadenas de polímero son mayores, mientras que a 70°C, el tiempo para el reacomodamiento de las moléculas puede resultar insuficiente y obtenerse estructuras menos ordenadas. Es probable que a temperaturas intermedias se logre obtener una estructura lo suficientemente ordenada en un período de tiempo corto que limite el fenómeno de retrogradación. Esto permite explicar el comportamiento de las propiedades funcionales de las películas compuestas secadas a temperaturas intermedias.

4. Conclusiones

Se formularon películas compuestas de almidón y pectina plastificadas con glicerol. Se evaluó el efecto de la proporción almidón-pectina y el efecto de la temperatura de secado sobre las propiedades fisicoquímicas y funcionales de las películas.

Para la serie de películas compuestas secadas a 30°C se observó que las películas de almidón y pectina presentan una mayor resistencia a la tracción y un bajo porcentaje de elongación, mientras que las películas compuestas resultan ser más flexibles. Este comportamiento puede ser atribuido a la estructura de la matriz y a la disminución de la cohesión molecular debida a la mezcla de polímeros.

Las propiedades vinculadas a la interacción con el agua, se encuentran fuertemente influenciadas por la hidrofiliidad de los polímeros y solubilidad de la pectina.

El aumento en la temperatura de secado genera una disminución en la resistencia mecánicas de las películas de pectina y almidón. Se observó que las propiedades mecánicas de las películas compuestas A50P50 mejoran en temperaturas intermedias de secado.

Los resultados indican que la formulación de películas compuestas permite obtener films más flexibles, disminuyendo la resistencia a la tracción y aumentando considerablemente el porcentaje de elongación, cuando aumenta la temperatura de secado.

La formulación de películas compuestas presenta como ventaja adicional que las películas obtenidas a temperaturas superiores a los 30°C son homogéneas y no se fracturan durante el secado.

Por lo tanto, el empleo de pectina en la obtención de películas compuestas con almidón resulta una alternativa más conveniente para la producción a mayor escala (planta piloto o industrial) donde los parámetros de proceso deben ser más severos que los empleados en el laboratorio.

5. Referencias

ASTM. (2010a). E96. Standard test methods for water vapour transmission of materials. Philadelphia: Standards American Society for Testing and Materials.

ASTM. (2010b). D882 Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting. Philadelphia, USA: Standards American Society for Testing and Materials

Bertuzzi, M.A., Gottifredi, J.C., and Armada, M. (2012). Mechanical properties of a high amylose content corn starch based film, gelatinized at low temperature. *Brazilian Journal of Food Technology*, 15(3), 219–227.

Cano, A., Jiménez, A., Cháfer, M., González, C., & Chiralt, A. (2014). Effect of amylose:amylopectin ration and rice bran addition on starch films properties. *Carbohydrate Polymers*, 543-555.

Coffin, D. R., & Fishman, M. L. (1993). Viscoelastic properties of pectin/starch blends. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(8), 1192-1197.

Coffin, D. R., & Fishman, M. L. (1994). Physical and mechanical properties of highly plasticized pectin/starch films. *Journal of Applied Polymer Science*, 54(9), 1311-1320.

Fishman, M. L., & Coffin, D. R. (1995). U.S. Patent No. 5,451,673. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

Fishman, M. L., Coffin, D. R., Unruh, J. J., & Ly, T. (1996). Pectin/starch/glycerol films: Blends or composites?. *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, 33(5), 639-654.

Gennadios, A., Weller, C. L., & Gooding, C. H. (1994). Measurement errors in water vapour permeability of highly permeable, hydrophilic edible films. *Journal of Food Engineering*, 21(4), 395e409.

Gamboni, J. Slavutsky, A. M, Bertuzzi, M.A (2015). Estudio del proceso de secado y su efecto sobre las propiedades funcionales de las películas de almidón, Buenos Aires. 2015. XV Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Asociación Argentina de Tecnólogos Alimenticios. ISBN 978-987-22165-5-9.

Jiménez, A., Fabra, M.J. , Talens, P., & Chiralt, A. (2012a). Effect of re-crystallization on tensile, optical and water vapour barrier properties of corn starch films containing fatty acids. *Food Hydrocolloids*, 26 (1), 302-310.

Meneguín, A. B., Cury, B. S. F., & Evangelista, R. C. (2014). Films from resistant starch-pectin dispersions intended for colonic drug delivery. *Carbohydrate polymers*, 99, 140-149.

Meneguín, A. B., Cury, B. S. F., dos Santos, A. M., Franco, D. F., Barud, H. S., & da Silva Filho, E. C. (2017). Resistant starch/pectin free-standing films reinforced with nanocellulose intended for colonic methotrexate release. *Carbohydrate polymers*, 157, 1013-1023.

Spiess WEL.; Wolf WR, (1983),The results of the COST 90. "Physical properties of food". London: Appl. Sci. 65-87.

Schultz, T. H.; Owens, H. S.; Maclay, W. D. (1948)Pectinate films. *J. Colloid Sci* ,3,53-62.

Schultz, T. H.;Miers, J. C.; Owens, H. S.; Maclay, W. D (1949).Permeability of pectinate films to water vapor. *J.Phys. Colloid Chem.*,53,1320-1330.

LAM, M.; PAULSEN, P.; CORREDIG, M. Interactions of soy protein fractions with high-methoxyl pectin. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, Washington, v. 56 n. 12, p. 4726-4735, 2008.

LIU, L.; FISHMAN, M. L.; HICKS, K. B. Pectin in controlled drug delivery - A review. *Cellulose*, United Kingdom, v. 14 n. 1, p. 15-24, 2007.

NISHIJIMA, T.; IWAI, K.; SAITO, Y.; TAKIDA, Y.; MATSUE, H. J. (2009). Chronic ingestion of apple pectin can enhance the absorption of quercetin. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, Washington, v. 57, n. 6 p. 2583-2587, 2009.

Larotonda, F.D.S., Matsui, K.N., Sobral, P.J.A., Laurindo, J.B., 2005. Higrscopicity and water vapor permeability of Kraft paper impregnated with starch acetate. *J. Food Eng.* 71, 394-402.

19TCA. Modelación y comparación de propiedades materiales durante la extracción de aceite de colza

Modeling and comparison of material properties during rapeseed oil extraction.

Daniel Alfredo Castro¹, Sergio Adrián Sini¹, Heber Noé Possa¹, Alejandro Ernesto Gentile¹, Ernesto Muñoz Puentes¹, Facundo Segundo Alfonso¹, Iván Emanuel Ferrari Galizia.

1. Facultad de Ciencias Aplicadas a la Industria. Bernardo de Irigoyen 375. San Rafael. Mendoza dcastro@fcai.uncu.edu.ar

Resumen

La producción agropecuaria se enfrenta a la gran responsabilidad de dar valor agregado tanto a los productos y servicios primarios como a abastecer en cantidad y calidad el consumo interno y la demanda de las exportaciones, tanto en lo que respecta a alimentos como a precursores energéticos. En nuestro país el cultivo de colza se presenta como un producto capaz de satisfacer tales exigencias. Dado que el principal uso y aprovechamiento de la colza se vincula a la obtención de biodiesel por trans-esterificación, muchos esfuerzos están dirigidos a potenciar y optimizar la extracción del aceite de colza. Se planteó la necesidad de desarrollar un modelo de extracción de aceite específico para la semilla de colza, y cuantificar las propiedades materiales tanto de naturaleza mecánica como térmica y su comparación en orden de magnitud.

Palabras clave: extracción mecánica – aceite - rendimiento

Abstract

Agricultural production faces the great responsibility of giving added value to both primary products and services and to supply in quantity and quality internal consumption and demand for exports, both in terms of food and energy precursors. In our country, rapeseed is presented as a product capable of satisfying such demands. Since the main use and exploitation of rapeseed is linked to the obtaining of biodiesel by trans-esterification, many efforts are directed to enhance and optimize the extraction of rapeseed oil. The need to develop a specific oil extraction model for rapeseed was raised, and quantify the material properties of both mechanical and thermal nature and their comparison in order of magnitude

Keywords: mechanical extraction - oil - performance

1. Introducción

Los modelos matemáticos que describen la compresión mecánica de semillas aceiteras son, en general, de tipo empírico o de tipo teórico. (Bargale et al., 2000). Los modelos desarrollados para compresión uniaxial están basados en la teoría de consolidación de Terzaghi para suelos saturados (Mrema y McNulty 1985, Sivala et al, 1991, Singh and Singh 1991). Dentro de este grupo el modelo de Mrema y McNulty, 1985, fue el más difundido. Sin embargo, considerando las dificultades en la medición de la variación de las propiedades materiales, se resolvió el modelo estimando valores promedios. Basados en los modelos teóricos citados y en el modelo teórico descrito de Mrema y McNulty, Bargale y colaboradores, desarrollaron en 1997 equipamiento y metodología para medir las variaciones de las propiedades materiales de permeabilidad y consolidación para un lecho de semillas sometidas a presión mecánica y desarrollar un modelo teórico predictivo del rendimiento de extracción de aceite por compresión. Centrarón su investigación en dos semillas aceiteras con contenidos de aceite bien diferenciados: semillas de girasol, considerada como aceitera de alto contenido de aceite (40-45%), y porotos de soja, oleaginosa de bajo contenido de aceite (18-20%). En tal escenario estimaron que para cualquier semilla oleaginosa con contenido de aceite dentro del intervalo experimentado, es posible emplear su modelo predictivo del rendimiento de extracción. Sin embargo, se pone en evidencia que aún cuando su contenido de aceite es muy próximo al del girasol, las características morfológicas y geométricas de las semillas de colza son totalmente diferentes, fundamentando la necesidad de la investigación específica y aplicada a esta semilla.

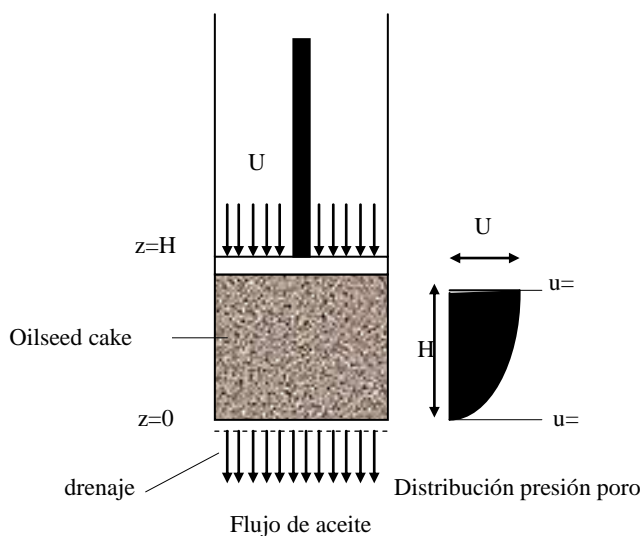


Figura 1. Mecanismo de consolidación de un lecho de semillas sometido a compresión uniaxial

La ecuación diferencial fundamental que gobierna el flujo de fluidos a través de sistemas saturados de dos fases establece que la velocidad de cambio de la presión de la fase líquida en poros es proporcional al cambio del gradiente hidráulico de presión (Willems et al., 2008). Matemáticamente esto se describe como:

$$\frac{\partial u}{\partial t} = c \frac{\partial^2 u}{\partial z^2} \quad (1)$$

$$c = \frac{k}{m_v \rho} \quad (2)$$

Donde c es el coeficiente de consolidación (m^2/s), k el coeficiente de permeabilidad (m/s) y m_v coeficiente de cambio de volumen (m^2/kN), todas propiedades materiales de naturaleza mecánica del medio comprimido. Por separación de variables se puede encontrar la solución de la ecuación fundamental, que, incluyendo la variación en el tiempo de tales propiedades materiales, es:

$$u(z,t) = \frac{4 U_0}{\pi} \sum_{n=1,3,5,\dots}^{\infty} \frac{1}{n} \left(\text{sen} \left(\frac{n\pi z}{2H} \right) e^{-\left(\frac{n\pi}{2H} \right)^2 c(t)t} \right) \quad (3)$$

El volumen total de aceite extraído Q (m^3) al tiempo t (s) es:

$$Q(t) = \frac{2 U_0 A_d}{\rho g H} \sum_{n=1,3,5,\dots}^{\infty} \left[\cos \left(\frac{n\pi z}{2H} \right) \right] \left[\int_0^t k(t) e^{-\left(\frac{n\pi}{2H} \right)^2 c(t)t} dt \right] \quad (4)$$

Un análisis inicial indica que los términos de orden superior $n > 3$ tienen escasa contribución al valor global. Así si sólo se incluye el valor $n > 1$ para propósitos de cálculo del valor de predicción, la ecuación anterior se reduce a:

$$Q(t) = \frac{2 U_0 A_d}{\rho g H} \left[\int_0^t k(t) e^{-\left(\frac{\pi}{2H}\right)^2 c(t)t} dt \right] \quad (5)$$

Agrupando constantes esta última expresión puede escribirse como:

$$Q(t) = B_0 \left[\int_0^t k(t) e^{-B_1 c(t)t} dt \right] \quad (6)$$

Para la cual se han definido las siguientes constantes:

$$B_0 = \frac{2 U_0 A_d}{\rho g H} \quad (\text{m}^2), \quad (7)$$

$$B_1 = \left(\frac{\pi}{2H}\right)^2 \quad (1/\text{m}^2) \quad (8)$$

Por su parte, la transferencia de calor por conducción a través de un material sólido en condiciones de régimen no estacionario se describe por la ley de Fourier:

$$\rho * C_p * \frac{\partial T}{\partial t} = \nabla(k \nabla T) \quad (9)$$

Con:

$$\alpha = \frac{k}{\rho * C_p} \quad (10)$$

donde α es la difusividad térmica, (m^2/s). Resolviendo por Lagrange, (Alvarado y Aguilera, 2001), para condiciones de calentamiento constante N es:

$$\alpha = \frac{N R^2}{4(T_R - T_C)} \quad (11)$$

Comparación entre consolidación mecánica y difusividad térmica. Analogías.

La presión mecánica y la temperatura aplicadas al lecho de semillas para la extracción mecánica convencional son variables operativas que guardan

relación con magnitudes de naturaleza diferente. Mientras que la presión se vincula con variables de naturaleza mecánica, la temperatura lo hace con variables de naturaleza térmica o del lecho de semillas. La presión mecánica produce modificaciones en el lecho de extracción, relacionadas a la carga dinámica aplicada. Conforme transcurre el tiempo, el lecho de semillas aumenta el grado de consolidación en la medida que la torta de extracción reduce su contenido en aceite. En esta etapa se conjugan fenómenos simultáneos de transferencia de cantidad de movimiento y energía térmica. El coeficiente de consolidación mide la relación entre el coeficiente de permeabilidad y el coeficiente de cambio de volumen. Es decir, indica si la presión mecánica aplicada se consume en comprimir el lecho de semillas y extraer aceite fuera de las células. Por su parte la difusividad térmica es el parámetro típico vinculado a la temperatura. Cuantifica la habilidad de un material de almacenar energía térmica durante un proceso transitorio de transferencia de calor. Del análisis de la analogía surge la homogeneidad tanto en la naturaleza de los parámetros involucrados como en sus dimensiones. En efecto, la analogía permite relacionar dos fenómenos de transporte fundamentales en ingeniería de procesos: el transporte de la cantidad de movimiento, por efecto de un gradiente de presión, y el transporte de energía térmica, por efecto de un gradiente de temperatura. Así, mientras el coeficiente de consolidación es análogo a la variable termodinámica difusividad térmica, el coeficiente de permeabilidad lo es a la conductividad térmica, y el coeficiente de cambio de volumen, lo es al calor específico.

2. Objetivos

Objetivo General

Modelizar la extracción mecánica de aceite de semilla de colza.

Objetivos Específicos

1. Determinar el coeficiente de consolidación como propiedad material característica de un lecho de semillas de colza sometido a extracción mecánica.
2. Desarrollar un modelo matemático específico para la extracción mecánica del aceite de semilla de colza, incorporando la variación en el tiempo del coeficiente de consolidación, como propiedad material de relevancia.

3. Determinar el coeficiente de difusividad térmica de un lecho de semillas de colza sometido a presión mecánica.
4. Analizar analogías entre consolidación mecánica y difusividad térmica.

3. Materiales y métodos

Evaluación de propiedades materiales

A los fines de determinar la variación de las propiedades materiales tanto mecánicas como térmicas se diseñó y construyó un equipamiento que incluye de una prensa hidráulica con capacidad de carga axial máxima 12Tn, una cámara de extracción de acero inoxidable AISI 316, con diámetro interno de 36.2 mm y 125.0 mm de longitud, y un pistón que puede alcanzar presiones máximas del orden de 60 MPa, y es solidario a un extensómetro (Figura 2).



Figura 2. Equipamiento empleado para la extracción mecánica convencional

Para cada corrida se mantiene la presión en el nivel establecido en el diseño experimental por medio de un lazo de control hidráulico. En la parte inferior se dispone de un plato perforado que permite el egreso del aceite extraído. Se dispone de una sonda termopar tipo K para la medición de la temperatura, ubicada en el radio medio de la torta de extracción. Se fija y mantiene la temperatura de la torta de extracción a través de un lazo de control térmico provisto de un controlador PID AUTONICS TZ4.

Para la determinación de la variación del coeficiente de permeabilidad, en cada corrida experimental se midió la variación de la altura de lecho de compresión en el tiempo y los flujos volumétricos de aceite extraído.

Para la determinación de la variación de coeficiente de cambio de volumen durante la compresión, se estableció un rango exploratorio de presión desde 0 hasta 50 MPa, con intervalos de 10 MPa. Luego se procedió a estimar la variación del coeficiente de consolidación y su modelo de ajuste. Tales propiedades materiales variables en el tiempo, juegan un rol relevante en la determinación del modelo específico que predice la extracción de aceite de una muestra de semillas de colza sometida a extracción mecánica convencional.

La determinación de la difusividad térmica se realizó empleando el equipamiento de compresión ya descrito, con la incorporación en el plato base de la cámara de extracción, de tres sondas de temperatura del tipo termopares Tipo K conectadas cada una a un Multímetro digital marca New Instrument", modelo Sinometer MS8209 monocanal, de origen U.S.A. Ver Figura 3.



Figura 3. Accesorios y equipamiento desarrollado para la medición de la difusividad térmica.

Exteriormente a la cámara de extracción se dispuso una resistencia eléctrica envolvente, por la que se hizo circular corriente eléctrica aportando energía térmica de calefacción. Como fuente de alimentación se usó una fuente digital estabilizada regulable de estado sólido, entrada 220 V en corriente alterna, salida ajustable en tensión desde 0.0 a 36.0 V, e intensidad de corriente regulable entre 0.0 y 1.0 A, marca MICRONICS SYSTEMS, de origen Francia.

Se trabajó con un diseño experimental 2⁴ tomando como variables independientes la tensión eléctrica aplicada al circuito de calefacción y la presión mecánica, ambas en cuatro niveles

exploratorios. Durante el transcurso del tiempo y a intervalos de 10 segundos se midieron y registraron los valores de temperatura en el punto central y en el radio máximo. La presión aplicada se estableció en 4 niveles: 0.0, 25.0, 37.5 y 50.0 MPa.

4. Resultados y Discusión

Propiedades materiales. Coeficiente de consolidación

La evaluación de las constantes B_0 y B_1 , necesarias para el cálculo numérico del modelo, arrojó para las condiciones experimentales de 50 MPa de presión y 48 °C de temperatura, los siguientes resultados: $B_0 = 164,6 \text{ (m}^2\text{)}$ y $B_1 = 500,7 \text{ (1/m}^2\text{)}$.

La figura 4 muestra la variación del coeficiente de consolidación como una función del tiempo para una muestra de semillas de colza sometida a presión de 50 MPa y 48 °C de temperatura de compresión, y el modelo de regresión ajustado.

Para tiempos experimentales comprendidos entre 1200 y 3600 segundos los valores del coeficiente de consolidación están comprendidos entre $7,38 \times 10^{-6}$ y $1,78 \times 10^{-7} \text{ [m}^2\text{/s]}$. A tiempos mayores a una hora el coeficiente de consolidación disminuye en más de un orden de magnitud. No hay información en la literatura, solamente Mrema & McNulty 1985, reportaron para la semilla de colza un valor de consolidación promedio de $6,30 \times 10^{-6} \text{ [m}^2\text{/s]}$ bajo condiciones experimentales semejantes a las ensayadas.

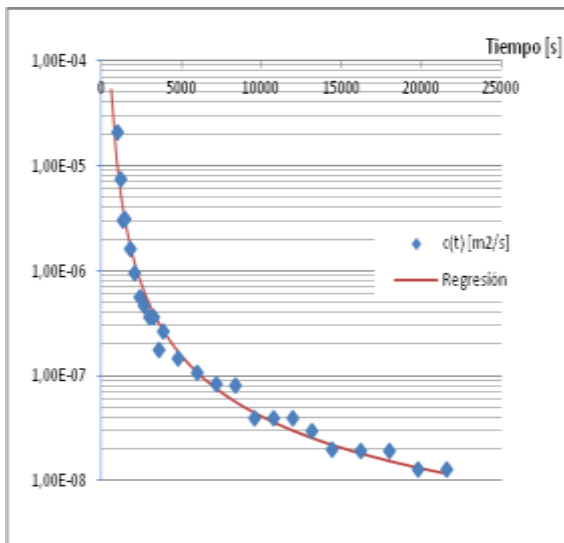


Figura 4. Variación del coeficiente de consolidación $c(t)$ $[\text{m}^2/\text{s}]$ en el tiempo para una muestra de semillas de colza sometida a presión de 50 MPa y 48 °C de temperatura de compresión y su contrastación con el modelo de regresión.

Evaluación del modelo de Bargale para la semilla de colza

Luego de estimar la variación en el tiempo de los coeficientes de permeabilidad y consolidación se evaluó numéricamente el modelo de Bargale con la inclusión de tales propiedades materiales. En la figura 5 se comparan los valores experimentales del volumen de aceite extraído con el modelo ajustado.

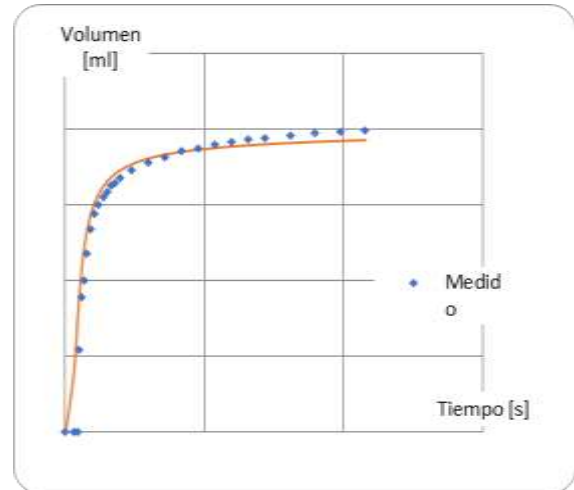


Figura 5. Comparación entre valores experimentales y modelo predictivo del volumen $[\text{ml}]$ de aceite extraído para una muestra de semillas de colza sometida a presión de 50 MPa y 48 °C de temperatura de compresión.

Propiedades materiales. Difusividad térmica

En la figura 6 se muestra la variación completa de la difusividad térmica versus el tiempo experimental para el período de calentamiento para una corrida característica. Se pone de manifiesto la variación de los datos calculados sobre todo en el período inicial, mientras que sobre la fase lineal del período de calentamiento la dispersión es más atenuada. Los valores determinados de difusividad térmica, comprendidos en el intervalo $1,66$ a $6,99 \times 10^{-8} \text{ [m}^2\text{/s]}$, son inferiores tanto a los reportados para pulpas de frutas, que oscilan entre $1,25$ y $1,81 \times 10^{-7} \text{ [m}^2\text{/s]}$, como a los reportados para algunos tubérculos, que varían entre $1,28$ y $1,69 \times 10^{-7} \text{ [m}^2\text{/s]}$.

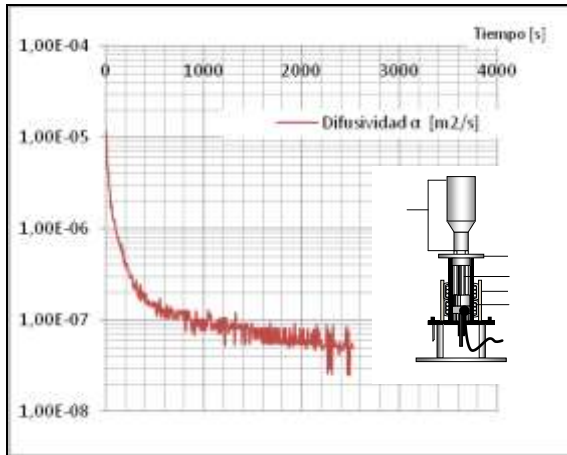


Figura 6. Variación de la difusividad térmica con el tiempo para una muestra de semillas de colza en etapa inicial y lineal del período de calentamiento. (Presión: 0,0 MPa)

Comparación entre consolidación mecánica y difusividad térmica. Analogías

La figura 7 muestra dos familias de curvas que representan los coeficientes de consolidación $c(t)$ y la difusividad térmica $\alpha(t)$ versus el tiempo, para distintos valores de presión mecánica.

El familia de 3 curvas, ubicada por encima, que representa los coeficientes de consolidación, se lee sobre el eje vertical izquierdo o principal. Por su parte, la familia de 4 curvas ubicada por debajo de la primera, describe la variación de la difusividad térmica con el transcurso del tiempo y debe ser leída sobre el eje vertical derecho o secundario. Con relación a la analogía entre el coeficiente de consolidación y la difusividad térmica se destaca que los coeficientes de consolidación son, en promedio, entre 1 a 2 órdenes de magnitud mayores que los que corresponden a la difusividad térmica. Es importante resaltar que tal comparación es válida teniendo en cuenta que la determinación de la difusividad térmica está limitada y restringida al período de linealidad de la temperatura versus el tiempo. En virtud de lo anterior se puede concluir que el lecho de semillas de colza sometido a presión mecánica uniaxial y temperatura de compresión parametrizada, evidencia más facilidad para la consolidación mecánica que para la transferencia de energía térmica.

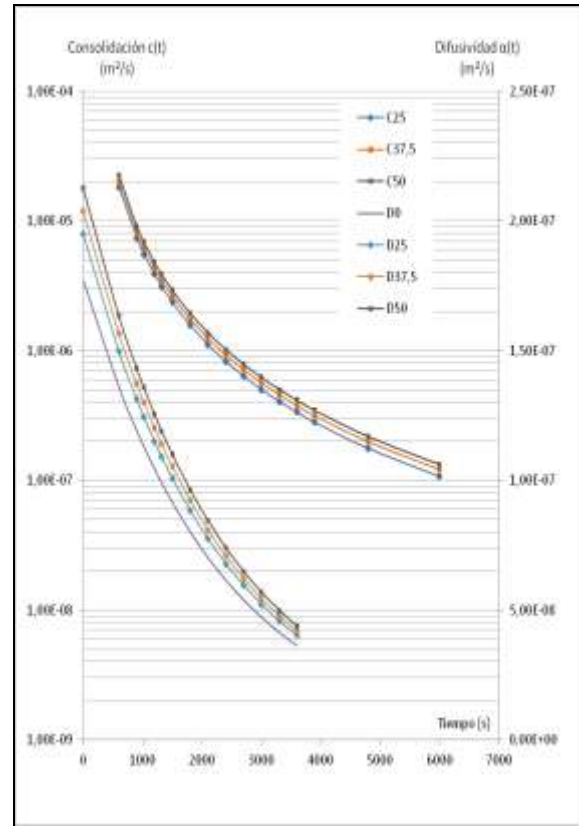


Figura 7. Comparación entre consolidación mecánica y difusividad térmica

5. Conclusiones

La inclusión de la variación en el tiempo de las propiedades materiales, en el modelo de predicción, en lugar de tomar un valor medio constante, ajusta la predicción a los datos experimentales y da fortaleza y pertinencia específica para la semilla de colza al modelo de Bargale, desarrollado en su origen para otras oleaginosas.

Los parámetros que resultan significativos para la determinación de la difusividad térmica son la velocidad de calentamiento y la presión mecánica aplicada.

Los valores del coeficiente de consolidación, como variable característica de naturaleza mecánica vinculada al esfuerzo mecánico de compresión, son en promedio 1 a 2 órdenes de magnitud mayores que los que corresponden a la difusividad térmica, como variable característica que describe el transporte de energía térmica por aplicación de gradiente de temperatura.

Se sugiere que para estudiar la extracción de aceite de otras oleaginosas por extracción mecánica, se evalúen las propiedades materiales correspondientes, lo que dará pertinencia a su modelo predictivo de extracción.

6. Referencias

- Alvarado, J.d D.; Aguilera, J.M.; Métodos para medir propiedades físicas en industrias de alimentos. 2001. Editorial ACRIBIA S.A. ISBN: 9788420009391
- Bargale, P.C., Wulfsohn, D., Irudayaraj, J., Ford, R., Sosulski, F., Prediction of Oil Expression by Uniaxial Compression using Time-varying Oilseed Properties. *J. agric. Engng Res.* 77 171-181 (2000).
- Bargale, P.C.; Ford, R.J.; Wulfsohn, J.: Measurement of Consolidation and Permeability Properties of Extruded Soy under Mechanical Pressing. *J. agric. Engineering Res.* 74 (1999) 155-165.
- Bargale, P.C.: Mechanical Oil Expression from Selected Oilseeds under Uniaxial Compression. Tesis Doctoral. Saskatoon, Saskatchewan, Canadá, 1997.
- Castro, D.; Membrives, F.; Balanza, M.; Ordoñez, A.; Castro, M.; Gentile, A. (2009). Evaluación experimental preliminar de rendimiento de extracción de aceite de semillas de colza por extracción mecánica convencional. *EnIDI 2009. Resúmenes* ISBN 978-950-42-0121-2
- Huang, L.; Lin-Shu, L.: Simultaneous determination of thermal conductivity and thermal diffusivity of food and agricultural materials using a transient plane-source method. *Journal of Food Engineering* 95, 179-185. (2009)
- Mrema G.C.; McNulty P.B. Mathematical model of mechanical oil expression from oilseeds. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 31 (5), 361 – 370. (1985).
- Sivala, K.; Vasudeka, V.; Sarangi, S.: Mathematical modelling of rice bran oil expression. *Journal of Food Process Engineering*. 14 51-68 (1991).
- Terzaghi, K.; *Theoretical Soil Mechanics*, Wiley, New York, NY (1943).
- Willems, P.; Kuipers, N.J.; De Hann, A.B.: Hydraulic pressing of oilseeds: Experimental determination and modeling of yield and pressing rates. *Journal of Food Engineering* 89, 8-16. (2008). Sineiro, J.; Dominguez, H.; Núñez, M.J.; Lema, J.M.: Microstructural Features of Enzymatically Treated Oilseeds. *Journal Science Food Agric.* 78 491-497 (1998).
- Soto, C., Chamy, R., Zúñiga, M., Enzymatic hydrolysis and pressing conditions effect on borage oil extraction by cold pressing. *Food Chemistry*, 102 834-840 (2007).
- Uquiche, E., Jeréz, M., Ortíz, J.: Effect of pretreatment with microwaves on mechanical extraccion yield and quality of vegetable oil from Chilean hazelnuts (*Gevuina avellana* Mol), *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, (2008), doi:10.1016/j.ifset.2008.05.004
- Venter, M.J., Kuipers, N.J., De Haan, A., Modelling and experimental evaluation of high-pressure expression of cocoa nibs. *Journal of Food Engineering*, 80 1157-1170 (2007).
- Venter, M.J., Hink, R., Kuipers, N.J., De Haan, A.B., The influence of process parameters on Gas Assisted Mechanical Expression (GAME) of cocoa nibs. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8 172-179. (2007).
- Voges, S., Eggers, R., Pietsch, A., Gas assisted oilseed pressing. *Separation and Purification Technology* (2008), doi:10.1016/j.seppur.2008.03.039
- Willems, P.; Kuipers, N.J.; De Hann, A.B.: A consolidation based extruder model to explore GAME process configurations. *Journal of Food Engineering* 90, 238-245 (2009).
- Willems, P.; Kuipers, N.J.; De Hann, A.B.: Hydraulic prressing of oilseeds: Experimental determination and modeling of yield and pressing rates. *Journal of Food Engineering* 89, 8-16. (2008).
- Zuñiga, M.E.; Soto, C.; Mora, A.; Chamy, R.; Lema, J.L.: Enzymic pre-treatment of Guevina avellana mol oil extraction by pressing. *Process Biochemistry* 39, 51-57 (2003).

20TCA. Rehidratación de sistemas encapsulados de pigmentos antocianos por gelación iónica, su análisis sobre diferentes técnicas de secado y composición de pared

Rehydration of encapsulated systems of anthocyanin pigments by ionic gelation, their analysis on different drying techniques and wall composition

Cecilia Csernoch¹, María Florencia Mazzobre² y Alicia Gallo¹

1 Dpto. de Tecnología, Universidad Nacional de Luján, 6700 Luján, Argentina.

2 CONICET- Dpto. de Industrias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.
Ciudad Universitaria, 1428 Buenos Aires, Argentina.

E-mail: ceciliacs2@hotmail.com

Resumen

En los últimos años se ha incrementado la tendencia al consumo de productos saludables, comienzan a tomar importancia métodos de conservación alternativos tales como la liofilización. Las zarzamoras son frutas rojas no tradicionales, su principal pigmento son las antocianinas que presentan una importante actividad antioxidante. Debido a la inestabilidad de los pigmentos naturales frente a factores externos y de proceso deben ser estabilizados, la encapsulación por gelación iónica surge como una técnica sencilla y reproducible. El objetivo del presente trabajo es evaluar la rehidratación de las microcápsulas de extractos antocianos de zarzamoras, obtenidas por gelación iónica con distintos sistemas de pared. Y comparar el comportamiento según las técnicas de deshidratación y las temperaturas de rehidratación de las microcápsulas. Se analizó la capacidad de sorción de agua (RR) y el coeficiente de rehidratación (CR) durante 30 minutos. Las muestras deshidratadas por liofilización muestran una hidratación superior a las secadas en estufa con aire caliente, lo cual concuerda con la alta porosidad y menor ruptura de la estructura de pared de las cápsulas al ser deshidratadas por la técnica de liofilización. En general, para los tres sistemas de pared y ambos métodos de secado, la temperatura óptima de rehidratación es 60 °C. El método de liofilización presenta grandes ventajas, frente al secado con aire caliente, en cuanto a la rehidratación de las cápsulas, como también juega un papel importante el sistema de pared en la transferencia de masa.

Palabras claves: rehidratación, antocianinas, zarzamoras.

Abstract

In recent years consumption trend to healthy products has increased, alternative preservation methods such as lyophilization begin to take importance. The blackberries are non-traditional red fruits, their main pigment anthocyanin present an important antioxidant activity. Due to the instability of natural pigments against external and process factors must be stabilized, the encapsulation by ionic gelation emerges as a simple and reproducible technique. The aim of the present work is to evaluate the rehydration of the microcapsules of blackberries anthocyanin extracts, obtained by ionic gelation with different wall systems. And compare the behavior according to the dehydration techniques and the rehydration temperatures. The water sorption capacity (RR) and the rehydration coefficient (CR) were analyzed during 30 minutes. The lyophilizate samples show a higher hydration than those dried in an oven, which agrees with the high porosity and less rupture of the capsules wall structure when dehydrated by the lyophilization technique. In general, for the three wall systems and both drying methods, the optimum rehydration temperature is 60 ° C. The lyophilization method has great advantages compared to hot air drying, in terms of rehydration of the capsules, as does the wall system in mass transfer.

Keywords: rehydration, anthocyanins, blackberries.

1. Introducción

Las zarzamoras son frutas no tradicionales, no suelen encontrarse en las verdulerías locales, pero presentan importantes propiedades nutritivas y se destacan por su alto poder antioxidante. Las antocianinas son el pigmento predominante de esta fruta, le otorga su coloración natural y son una excelente alternativa para diseñar alimentos compuestos que los contengan. Estos pigmentos son reconocidos como fitonutrientes poderosos, y su presencia en alimentos se distingue por su color característico, especialmente rojos oscuros, azules o púrpuras. Los fitoquímicos de esta clase suelen denominarse bioflavonoides, debido a su rol en el mantenimiento de la salud humana. Las actividades secuestrantes de radicales libres y antioxidante de los pigmentos antocianos se han reportado abundantemente en la bibliografía (Skibola y Smith, 2000; Tsuda et al., 2003). Es así que han irrumpido en el mercado los productos llamados “nutracéuticos”, que incluyen ingredientes que no sólo proporcionan nutrientes, sino generan además un efecto benéfico en la salud humana (Sanz y Dalmau, 2008).

La encapsulación es un proceso mediante el cual ciertas sustancias bioactivas (sabores, aromas, colorantes, vitaminas, aceites esenciales, etc.) son introducidas en una matriz o sistema pared con el objetivo de controlar su liberación, para protegerlos frente a procesos como oxidación, evaporación, degradación térmica o migración en el alimento (Sagalowicz et al., 2006; Schrooyen et al., 2001). En particular la generación de microcápsulas por interacción de polielectrolitos naturales con carga opuesta, se introdujo en los últimos años para estabilizar moléculas lábiles tanto en solución como en sistemas liofilizados, ya que es una técnica sencilla y reproducible (Vasile et al., 2017; Santagapita et al., 2012).

El proceso de liofilización se basa en el desecado de determinados materiales por medio de la sublimación del agua contenida en éstos. Se realiza congelando el producto y se remueve el hielo en condiciones de vacío, de esta forma el hielo sublima evitando el paso por la fase líquida. Lo más importante del método es que no altera la estructura fisicoquímica del producto y admite su conservación sin cadena de frío, ya que su bajo porcentaje de humedad no requiere refrigeración facilitando su distribución y almacenamiento. Por otro lado, el bajo porcentaje de agua presente en las matrices liofilizadas, obliga a utilizar materiales de empaque con alta restricción al ingreso del vapor de agua. El estado sólido del agua durante la liofilización protege la estructura primaria y forma de los productos con una reducción mínima de volumen, manteniendo la estructura de los alimentos y las células casi intacta, obteniendo un

producto final altamente poroso (Meda y Ratti 2005). La importancia y alta demanda de productos naturales alimenticios ha impulsado el uso de alternativas de preservación, tales como la liofilización.

Por otro lado, otra técnica de deshidratación, es el secado convectivo una técnica muy utilizada en la conservación de alimentos. Debido a que se utilizan altas temperaturas de procesado, la calidad del producto secado en general presenta mala calidad sensorial, aspecto inadecuado, una tasa baja de rehidratación y disminución su valor nutritivo (Moraga et al., 2011; Vadivambal y Jayas, 2007)

En los productos deshidratados, la rehidratación es un parámetro de calidad importante, ya que ningún producto seco puede tener buena calidad si su rehidratabilidad es baja. Esta medida está relacionado, con el daño estructural ocasionado al producto durante el secado, cuanto menor es el daño, mayor debería ser la capacidad de rehidratarse (Vega-Galvez et al., 2009).

El objetivo principal de este trabajo es evaluar la rehidratación de las microcápsulas de extractos antocianos de zarzamoras, obtenidas por gelación iónica con distintos sistemas de pared. Y comparar el comportamiento según las técnicas de deshidratación y las temperaturas de rehidratación de las microcápsulas.

2. Materiales y métodos

Preparación de las cápsulas

Las zarzamoras fueron adquiridas en productores de la zona de Luján, provincia de Buenos Aires. Las frutas se congelaron armando un único pool hasta su posterior empleo. Para obtener el extracto de zarzamoras se descongelaron, trituraron, escaldaron y centrifugaron. Las cápsulas se prepararon mezclando el extracto en distintas formulaciones: 1,5 % (peso g de alginato de sodio/100 g extracto) (CA), 1,5 % p/p de alginato de sodio + 1% p/p pectina (CAP), 1,5 % p/p de alginato de sodio + 5 % p/p de gelatina de 250 Bloom (CAG). Las cápsulas se obtuvieron por goteo de las distintas mezclas sobre una solución acuosa de CaCl_2 al 2 % p/p, donde se mantuvieron 10 minutos con agitación suave, luego se lavaron con agua destilada y se filtraron.

Secado en estufa de tiro forzado

Las cápsulas formadas por gelación iónica fueron deshidratadas en estufa de tiro forzado a $60\text{ }^\circ\text{C} \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$ (Estufa SANJOR, Industria Argentina), hasta

lograr peso constante. Una vez deshidratadas, se colocaron en ambiente de baja humedad hasta realizar el ensayo de rehidratación.

Secado por liofilización

Las muestras congeladas fueron liofilizadas (liofilizador LABCONCO FREEZONE 12) estabilizado en los siguientes parámetros: presión: 30×10^{-3} MBAR, temperatura: -54°C , durante 72hs. Luego se colocaron rápidamente en un desecador para evitar su rehidratación.

Rehidratación

Cada una de las tres muestras (CA, CAP, CAG), previamente deshidratadas por los métodos de secado con aire caliente (CAE, CAPE, CAGE) y liofilización (CAL, CAPL, CAGL), fueron rehidratadas a distintas temperaturas (0 , 25 y 60°C) sumergidas en agua destilada. Para lograr un baño a 0°C se utilizó una mezcla de hielo y agua, para 25 y 60°C se empleó un baño termostatzado. Las microcápsulas se ubicaron en pequeños coladores con malla de tela y se sumergieron durante 1 , 5 , 10 , 15 y 30 minutos. Se registraron los pesos de las cápsulas en balanza analítica (Denver Instrument, USA; con precisión $+ 0,0001\text{g}$).

El grado de rehidratación final de las cápsulas deshidratadas en las distintas condiciones se puede expresar como capacidad de sorción de agua (RR) (Ec.1), que indica el peso ganado durante la hidratación de la muestra. Por otro lado, el coeficiente de rehidratación (CR) indica el grado de recuperación de peso respecto al producto fresco. (Ec.2) (Chavez and Avanza, 2005; Prabhanjan et al, 1995).

$$RR = M_{\text{rht}}/M_{\text{s0}} \quad (\text{Ec.1})$$

$$CR = (M_{\text{rht}} - M_{\text{fd}})/(M_0 - M_{\text{fd}}) \times 100 \quad (\text{Ec. 2})$$

Donde:

M_{rht} : masa de la cápsula rehidratada (g) en el tiempo de estudio

M_{s0} : masa de las cápsulas secas antes de rehidratar (g)

M_{fd} : masa de las cápsulas después de la deshidratación (g)

M_0 : masa de las cápsulas frescas, antes del secado (g)

Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

Microscopia electrónica de Barrido (SEM) en muestras deshidratadas

La morfología de las partículas se evaluó por microscopía electrónica de barrido (SEM), operado en el modo de alto vacío (Philips XL30). Se utilizó el equipamiento del Museo de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia, Buenos Aires, Argentina.

Análisis estadístico

Para evaluar las diferencias entre las muestras analizadas, se realizaron análisis de la varianza (ANOVA), para un nivel de significación (α) de $0,05$. Se utilizó el programa SPSS versión 21.

3. Resultados y discusión

Marabi et al. (2003) estudió los fenómenos de rehidratación utilizando el modelo de distribución y concluyó que para los productos con alta porosidad, como los liofilizados, la transferencia de masa es controlada por capilaridad, mientras que para los productos con baja porosidad, como aquellos secados por aire caliente, predomina la difusión. Estos estudios podrían explicar las diferencias observadas en las figuras 1, 2 y 3, las cuales muestran el aumento del coeficiente de rehidratación a lo largo del tiempo para cada una de las muestras analizadas. Por otro lado, la temperatura de hidratación es un parámetro importante cuando se trabaja con productos alimenticios, ya que define en qué tipo de matriz pueden incluirse las cápsulas.

Las microcápsulas deshidratadas por liofilización (CAL, CAPL, CAGL) presentan una rehidratación claramente superior a las secadas en estufa con aire caliente. Lo que concuerda con la alta porosidad y menor ruptura de la estructura de pared de las cápsulas deshidratadas por la técnica de liofilización, tal como también observara Meda y Ratti (2005) en sus estudios.

Por otro lado, ocurre una hidratación lenta en las cápsulas deshidratadas en estufa con aire caliente, a los 30 minutos de análisis. La muestra CAGE presenta mayor recuperación del peso inicial (CR %: $15,51$ a 0°C ; $21,82$ a 25°C y $19,15$ a 60°C), respecto a las otras formulaciones secadas en estufa a las distintas temperaturas. Posiblemente la mayor rigidez de las cápsulas CAG, estudiado en trabajos anteriores (Csernoch et al.; 2017), permitió que al deshidratarse en estufa su estructura presente un menor daño, logrando una mayor rehidratación.

En las cápsulas liofilizadas (CAL, CAPL, CAGL) a medida que se incrementa la temperatura, aumenta el CR. La muestra con sólo alginato en su composición, presenta mayor rehidratación a todas las temperaturas ensayadas, de modo que sería la mejor alternativa en éste tipo de secado. Para las muestras secadas en estufa, la fórmula CAGE muestra un comportamiento distintivo, logrando una mayor hidratación a las tres temperaturas. En general, para los tres sistemas de pared y ambos métodos de secado, la temperatura óptima de rehidratación es 60 °C.

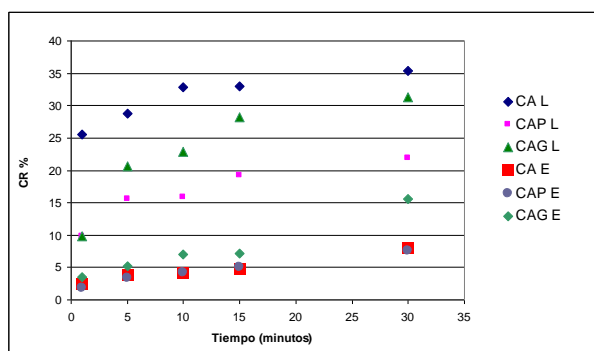


Figura N°1: Valores de CR % para cada muestra rehidratada a 0°C.

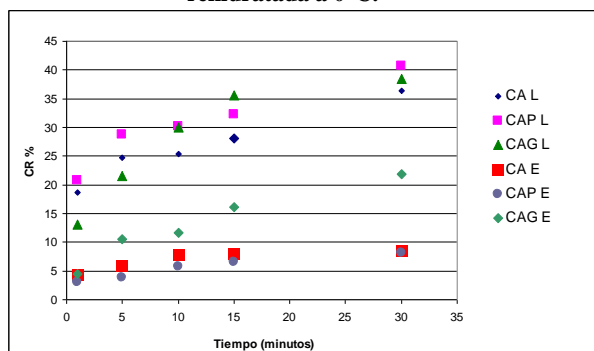


Figura N°2: Valores de CR % para cada muestra rehidratada a 25°C.

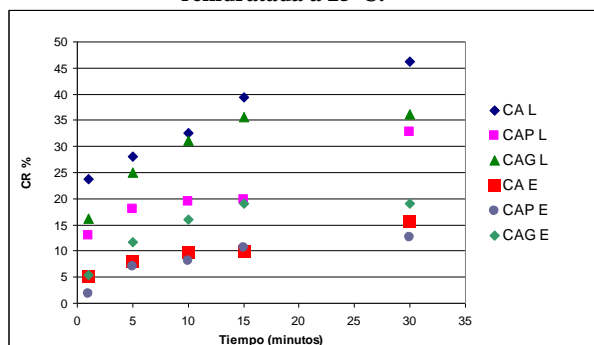


Figura N°3: Valores de CR % para cada muestra rehidratada a 60°C.

El gráfico 4 muestra la capacidad de hidratación (RR) de cada una de las muestras, a los 30 minutos de análisis. Las cápsulas deshidratadas por liofilización muestran una diferencia estadística significativa ($p < 0,05$) en cuanto a su capacidad de rehidratación en relación a su sistema de pared, la muestra que contiene sólo alginato en su composición presenta una mayor capacidad de hidratación (RR), a los 30 minutos de análisis y a las tres temperaturas analizadas, mientras que las cápsulas con pectina (CAPL) muestran menor valor de RR. Por otro lado, las cápsulas deshidratadas en estufa de tiro forzado, para todas las formulaciones analizadas, el mejor comportamiento se observa a una temperatura de rehidratación de 60 °C.

En trabajos anteriores se ha estudiado la correlación entre contenido de antocianinas y capacidad antioxidante en frutas rojas (Villarreal et al., 2016). El proceso de deshidratación, genera un lógico aumento en la concentración de antocianinas, por la pérdida de agua (entre 9 y 17 veces en muestras liofilizadas y entre 4 y 12 veces para muestras secadas en estufa). La composición de la pared, tal como se indicara, también ejerce un efecto sobre la protección de los pigmentos, así como influye en las condiciones de rehidratación. Luego de los diferentes procesos, se observó que las cápsulas no retornan a la humedad inicial, y genera un aumento en la concentración de pigmentos respecto a los iniciales (CAL 132%, CAPL 130%, CAGL 112%, CAE 279%, CAPE 270%, CAGE 80%). Esto está en estrecha correlación con la capacidad antioxidante y la bioactividad de las cápsulas desarrolladas.

En la figura 5 se puede observar la forma y estructura de las cápsulas húmedas (sin tratamiento de deshidratación) y las cápsulas liofilizadas y deshidratadas en estufa (A, B y C respectivamente). Se aprecia una diferencia en tamaño y forma de las cápsulas según la técnica de secado, las muestras liofilizadas presentan mayor tamaño y preservan mejor la forma de las cápsulas, respecto a las secadas en estufa.

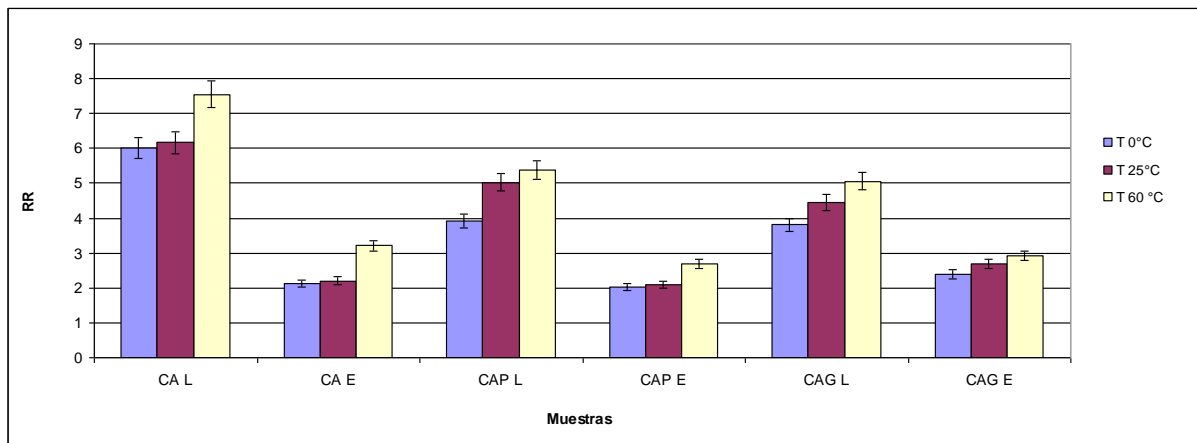


Figura 4: Valores de RR máximos, a 30 minutos de rehidratación de las cápsulas, para cada uno de los sistemas de pared analizados, deshidratados por liofilización (L) y por estufa (E).

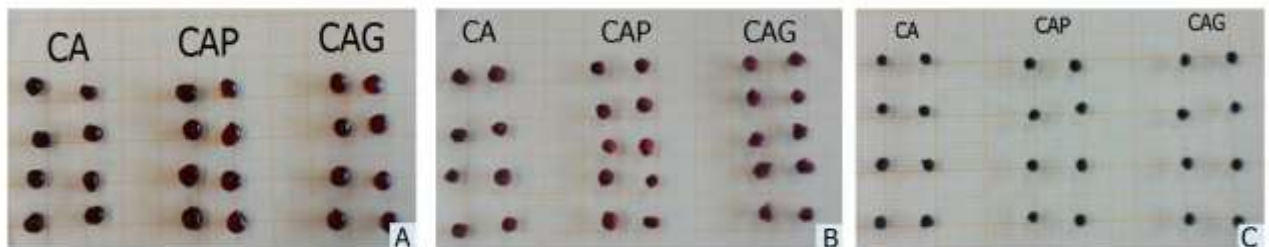


Figura N°5: Imágenes de las cápsulas con distintos sistemas de pared: frescas (A), deshidratadas por liofilización (B) y deshidratadas en estufa (C).

Las características estructurales superficiales y del interior de las cápsulas se diferencian claramente mediante la microscopía electrónica de barrido (figura 6). Las cápsulas deshidratadas en estufa (A, B) muestran la característica estructura de caja de huevo formada por el alginato, y las pequeñas cámaras vacías por la extracción del agua durante el secado. La pared exterior se observa engrosada (A)

lo que constituye una barrera para el ingreso de agua durante la rehidratación. En C y D se observa una estructura porosa en el interior de la cápsula, que adopta la forma de “hojuelas”, con una mayor superficie expuesta para el ingreso de agua. En éste caso no hay formación de costra en el exterior de las cápsulas liofilizadas.

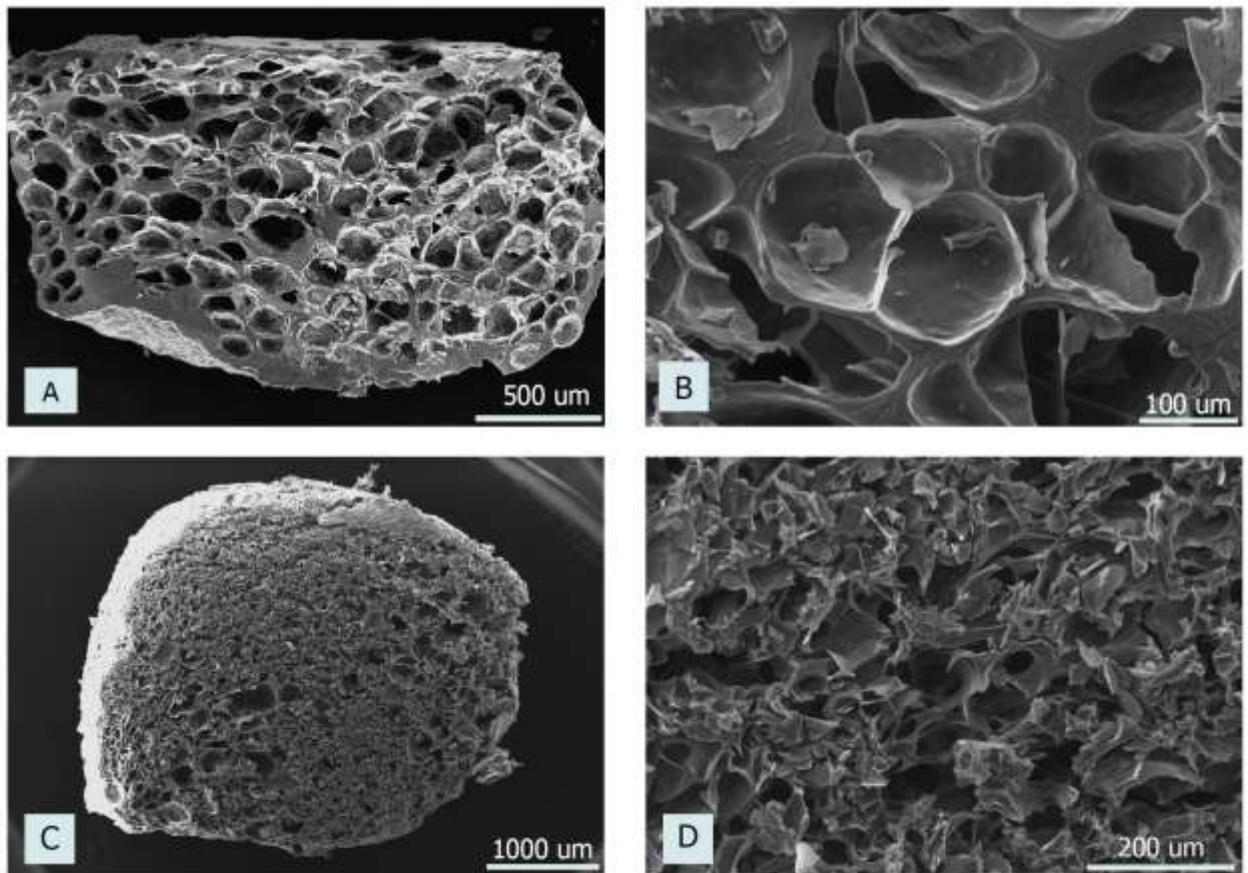


Figura N°6: imágenes tomadas con un Microscopio electrónico de Barrido a la muestra CA deshidratada en estufa A (50X), B (200X) y en liofilizador C (23X), D (150X)

Conclusiones

La técnica de liofilización como método de deshidratación, otorga al producto una rehidratación significativamente superior de las cápsulas respecto a las secadas con aire caliente, sin embargo cabe destacar, el mayor gasto energético que involucra la liofilización frente al secado en estufa. La relación costo /beneficio está asociada a la capacidad de rehidratación de las matrices desarrolladas y del uso posterior que pretenda dársele a las cápsulas ricas en antocianinas.

Por otra parte, los distintos sistemas de pared son importantes, en sí mismos, y afectan el comportamiento de las cápsulas frente a la rehidratación. Además se evidencia la influencia de la técnica de deshidratación y de la temperatura de rehidratación, para la hidratación de los productos. Si se elige la liofilización como técnica de deshidratación la fórmula CAL presenta resultados óptimos a las tres temperaturas ensayadas. Si se utiliza la deshidratación por secado convectivo, las cápsulas CAGE son las que presentan mayor rehidratación a las distintas temperaturas analizadas. El proceso de deshidratación y posterior rehidratación logró mantener la concentración de pigmento y bioactividad deseada en las cápsulas.

En éste sentido, continuamos estudiando los mecanismos de liberación de los pigmentos antocianos estabilizados en las microcápsulas y su aplicación en matrices alimentarias reales.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo financiero de la Universidad Nacional de Luján y la colaboración de las técnicas Gabriela Cano y Daniela Taglieri, personal de apoyo técnico CIC.

4. Referencias

- Abdel-Aal E.-S. y Hucl P. (1999). *A Rapid Method for Quantifying Total Anthocyanins in Blue Aleurone and Purple Pericarp Wheats*. Cereal Chemistry, 76:350-354.
- Chaves, M. G.; Avanza, Jorge R. (2005). *Rehidratación de berenjenas deshidratadas*. Universidad Nacional del Noroeste, Comunicaciones Científicas y Tecnológicas 2005. Resumen: E:055.
- Csernoch, C.; Mazzobre, M. F. y Gallo, A. (2017). "Estabilización de pigmentos antocianos de moras por gelación iónica en matrices de polímeros naturales" en VII International

- Conference on proteins and food colloids 2017, Buenos Aires, Argentina.
- Francis, F. J. (1989). *Food colorants: anthocyanins*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 28: 273-314.
- Gallo, A. (2006) "Estudio de la estabilidad de pigmentos antocianos de frutillas en alimentos deshidratados" en Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos 2006, Córdoba, Argentina.
- Giusti M.; Wrolstad R.E. (2001) *Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy*. In: *Handbook of food analytical chemistry*. New Jersey: John Wiley & Sons; p. 19-31.
- Meda L.; Ratti C. (2005). *Rehydration of freeze-dried strawberries at varying temperatures*. Journal of Food Process Engineering. 28: 233-246.
- Moraga, G., Talens, P., Moraga, M.J., Martínez-Navarrete, N. (2011). *Implication of water activity and glass transition on the mechanical and optical properties of freeze-dried apple and banana slices*. Journal of Food Engineering, 106: 212–219.
- Prabhanjan, D.G.; Ramaswamy, H.S.; Raghavan, G.S.V. (1995). *Microwave-assisted Convective Air Drying of Thin Layer Carrots*. Journal of Food Engineering, 25: 283-293.
- Sagalowicz, L.; Leser, M.; Watzke, H.; & Michel, M. (2006). *Monoglyceride self-assembly structures as delivery vehicles*. Trends in Food Science & Technology, 17: 204-214.
- Santagapita, P. R.; Mazzobre, M. F.; Buera, M. del Pilar. (2012). *Invertase stability in alginate beads Effect of trehalose and chitosan inclusion and of drying methods*. Food Research International, 47: 321–330
- Sanz, Y. y Dalmau J. (2008) *Los probióticos en el marco de la nueva normativa europea que regula los alimentos funcionales*. Acta Pediatr Esp., 66: 27-31.
- Schrooyen, P.M.M.; van der Meer, R. y De Kruif, C.G. (2001). *Microencapsulation: its application in*

- nutrition*. Proceedings of the Nutrition Society, 60: 475–476.
- Schrooyen, P.M.M.; van der Meer, R.; De Kruijff, C.G. (2001). *Microencapsulation: its application in nutrition*. Proceedings of the Nutrition Society, 60: 475– 476.
 - Skibola C.; Smith M. (2000) *Potential health impacts of excessive flavonoid intake*. Free Radic Biol Med, .29 (3-4):375–383.
 - Sreenath HK.; Nanjundaswamy A.M.; Sreekantiah K.R (1987) *Effect of various cellulases and pectinases on viscosity reduction of mango pulp*. Journal of Food Science 52: 230-321.
 - Tsuda T, Horio F, Uchida K, Aoki H, Osawa T. (2003) *Dietary cyanidin 3-O-beta-D-glucoside-rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycemia in mice*. J Nutr.; 133(7):2125–2130.
 - Vadivambal, R.; Jayas, D.S. (2007). *Changes in quality of microwave treated agricultural Products*. Biosystems Engineering, 98: 1-16.
 - Vasile, Franco E.; Romero, Ana M.; Judis, María A.; Mazzobre, M. Florencia. (2017). “*Prosopis alba exudate gum as novel excipient for fish oil encapsulation in polyelectrolyte bead system*”. *Carbohydrate Polymers* (ISSN: 0144-8617), 166: 309-319.
 - Vega-Gálvez, A.; Di Scala, K.; Rodríguez, K.; Lemus-Mondaca, R.; Miranda, M.; López, J., Perez-Won, M. (2009). *Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties, antioxidant capacity, colour and total phenolic content of red pepper (Capsicum annuum, L. var. Hungarian)*. Food Chemistry, 117: 647–653.
 - Villarreal A.; Galeano M.; Heinrich L.; Abbruzzese C.; Csernoch C. y Gallo A. (2016). “*Contenido de antocianinas y capacidad antioxidante en frutos rojos de Argentina*” en VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos 2016, Córdoba, Argentina.

21TCA. Peptidasas de *Aspergillus niger* NRRL 3: optimización de su producción por fermentación en estado sólido, purificación y caracterización

Peptidase from *Aspergillus niger* NRRL 3: Optimization of its production by solid-state fermentation, purification and characterization

Julia Lombardi^{1,2}, Débora Natalia López^{1,2,3}, Natalia Montellano Duran^{1,2}, Germán Ruggieri¹, Julia Piaruchi¹, María Eugenia Dib¹, Patricia Hilda Risso^{1,2,4}, Valeria Boeris^{1,2,3}, Darío Spelzini^{1,2,3}

1. Universidad Nacional de Rosario. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Área Físicoquímica. Suipacha 570. Rosario. 2. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). 3. Universidad Católica Argentina. Facultad de Química e Ingeniería del Rosario. 4. UNR. Facultad de Ciencias Veterinarias. Correo electrónico de contacto: dspelzini@fbioyf.unr.edu.ar

Resumen

En este trabajo se optimizaron las condiciones de producción de peptidasas de *A. niger* en fermentaciones en estado sólido con la capacidad de coagular leche. Se utilizó una mezcla de residuos agroindustriales, cáscara de soja y cáscara de naranja entre otros, como sustrato sólido no inerte en las fermentaciones en estado sólido. Se utilizó diseño experimental y superficie de respuesta, entre las condiciones ensayadas los factores significativos resultaron ser el pH inicial, 7 y la concentración de NaNO₃, 3,9 g/L, en el medio líquido. Se hicieron extractos enzimáticos de las peptidasas y se emplearon diversas metodologías de purificación, se obtuvo un factor de purificación de 9, 31 y un 36 % de rendimiento por adsorción en una matriz de DEAE-celulosa seguida de filtración en gel en Sephadex G-100, estos resultados fueron confirmados por electroforeses en gel de poliacrilamida. Se determinó la temperatura, 70°C y pH óptimos, 8; también se determinaron los rangos de estabilidad en función de la temperatura y el pH. Los resultados obtenidos indican que se optimizó la producción y se caracterizó la actividad enzimática de peptidasas capaces de ser utilizadas como coagulantes en la industria alimentaria

Peptidasas, fermentación en estado sólido, purificación.

Abstract

In this work the conditions for *A. niger* peptidase production by solid state fermentation were optimized. A mixture of agro industrial residues, such as soy and orange hull, was utilized as solid substrate in solid state fermentation. An experimental design and response surface methodology were applied, among assayed conditions the significant factors were the initial pH, 7 and NaNO₃ concentration in the liquid medium. Enzymatic extract of peptidase was carried out and then was purified by adsorption on DEAE-cellulose followed by Sephadex G-100, a 9,31 purification factor and yield of 36% was obtained. The optimum temperature, 70°C and optimum pH, 8 were determined; also the range of temperature and pH of enzymatic stability were calculated. The result obtained indicated that the production and enzymatic activity of potential use in the food industry was optimized and characterized

Peptidase, solid state fermentation, purification.

1. Introducción

Las peptidasas presentan diversas aplicaciones industriales en general y en la industria alimentaria en particular (Berry and Paterson, 1990) ya que pueden coagular las caseínas de la leche para preparar cuajada en la industria quesera (Lombardi

et al., 2018), son útiles en la producción de condimentos, en la eliminación de la turbidez en jugos de fruta y bebidas alcohólicas y en el mejoramiento de alimentos ricos en proteínas (Daroit et al., 2011). Algunas aplicaciones de las peptidasas incluyen la hidrólisis de proteínas de soja, gelatina y caseínas, entre otras (Tang et al., 2009).

Aspergillus niger es un hongo filamentoso, que produce dos clases de peptidasas. Por un lado se encuentran las peptidasas aspárticas o ácidas, denominadas aspergillopepsinas, que se caracterizan por tener pH óptimos bajos, entre 3 y 4 (Siala et al., 2009; Takahashi et al., 1991). Por otra parte, el hongo produce proteasas neutras o alcalinas (Abidi et al., 2014; Barthomeuf et al., 1992), las cuales son generalmente serin proteasas que se caracterizan por tener pH óptimos altos, entre 7 y 11, y por su estabilidad a altas temperaturas.

La fermentación en estado sólido (FES) se refiere a todo proceso de fermentación que se lleva a cabo sobre un sustrato sólido (SS), en el cual existe crecimiento microbiano, prácticamente en ausencia de agua libre. Sin embargo, el sustrato debe proporcionar cierto grado de humedad para permitir el desarrollo microbiano y puede actuar como fuente de nutrientes o simplemente ser soporte inerte para el crecimiento (Pandey, 2003).

La FES utiliza pequeños volúmenes de fermentación y permite una simple recuperación de los productos. De esta manera, reduce el costo de instalación y operación. Una ventaja importante del uso de FES es la posibilidad de utilizar sub-productos agroindustriales como sustratos. Anualmente, las industrias producen enormes cantidades de residuos, y su eliminación no siempre es sencilla (Orzua et al., 2009).

El objetivo de este trabajo es optimizar la producción de peptidasas de *A. niger* por FES utilizando residuos agroindustriales o domésticos como sustrato. Se propone también purificar y caracterizar las enzimas obtenidas.

2. Materiales y métodos

Materiales: Se utilizó la cepa de *A. niger* NRRL 3. Se estudió el uso de cáscara de naranja (CN), cascarilla de soja (CS), aquenio de plátano, *Platanus x hispanica* (AP) y yerba mate, *Ilex paraguayensis* (YM) como SS no inerte. Previo a su utilización, la CN se secó y trituró con un homogeneizador de cuchillas, se tamizó y se obtuvieron partículas cuyo tamaño superan los 297 μm . La CS, gentilmente donada por Molinos Río de la Plata S.A, se utilizó sin tratamiento previo. El AP fue lavado y secado previo a su empleo. La yerba mate fue secada y utilizada sin molienda previa.

Determinación del índice de ganancia de agua (IGA): Para cada SS se determinó el IGA, que indica la cantidad de agua que puede ser absorbida por el soporte. Se pesaron con precisión aproximadamente 1 g de cada sustrato y se incorporaron 15 mL de agua destilada. Se agitó con varilla de vidrio durante

1 minuto y se centrifugó durante 10 minutos a 3000 g. Al finalizar la centrifugación, se descartó el precipitado y el IGA fue calculado a partir del peso del sobrenadante remanente, expresado como mL H₂O/g SS.

Crecimiento de *A. niger* por FES: El crecimiento de *A. niger* se realizó en tubos picos de flauta en medio agar papa (39 g/L), durante 4 días a 35 °C (Figura 1). Luego, se agregaron 2 mL de agua destilada estéril y se rasparon los conidios empleando una espátula estéril. Se determinó la concentración de conidios por medidas de absorbancia a 620 nm. La correlación entre la densidad óptica y la cantidad de conidios fue determinada empleando una cámara de Neubauer. Las FES fueron llevadas a cabo por triplicado en placas de Petri estériles de 90 x 15 mm, en las cuales se colocaron 3 g de SS estéril y se agregó una cantidad adecuada de medio líquido estéril, de acuerdo al IGA de cada SS. Se permitió la hidratación del SS durante 24 horas a temperatura ambiente. Posteriormente, se inoculó cada placa con una suspensión de conidios.



Figura 1. FES de *A. niger* . Izquierda: Conidios en picos de flauta con agar papa. Derecha arriba: aspecto algunos de los SS empleado. Derecha centro y abajo: Escalado de la FES de *A. niger*.

Optimización de la producción de peptidasas de *A. niger* (PAN): Se realizó una fase exploratoria en la cual se determinaron los factores significativos para la producción de PAN; posteriormente se realizó la optimización de dichos factores y por último, la validación, llevando a cabo la fermentación en las condiciones seleccionadas como óptimas. Los factores ensayados en la fase exploratoria incluyeron la composición del SS, la composición del medio líquido, el inóculo y las condiciones de incubación como pH y temperatura. La relación de masa entre

CS y CN se varió entre 0,25 y 0,4 g CS/g CN, la concentración de K_2HPO_4 entre 250 y 500 mM en medio líquido, el pH inicial entre 6,0 y 7,0, la concentración de $NaNO_3$ hasta 2,5 g/L en medio líquido, el inóculo entre 5.000 y 50.000, el tiempo de incubación entre 5 y 8 días y la temperatura de incubación entre 30 y 40 °C.

Escalado de la producción de PAN: Una vez encontradas las condiciones óptimas de FES, se escaló 10 veces el proceso. La fermentación se llevó a cabo en erlenmeyers de 500 mL, usando 30 g de SS (Figura 1).

Extracción, clarificación, purificación y estabilización de las PAN: Una vez finalizado el período de incubación, se prepararon extractos adicionando 10 mL de agua destilada por cada 3 g de SS y se mantuvo en agitación durante 10 minutos a temperatura ambiente. A continuación, se centrifugó, permitiendo separar las fases líquida (fracción A) y sólida. Con el fin de reducir la coloración de los extractos se ensayó la adsorción con carbón activado al 5% durante 12 horas, a 4 °C. Se probaron distintas técnicas separativas para purificar la enzima: fraccionamiento con sulfato de amonio seguido de diálisis, adsorción en matrices de intercambio iónico y cromatografía de exclusión molecular. La precipitación salina se realizó utilizando $(NH_4)_2SO_4$ al 70 %. La droga sólida, previamente disgregada empleando mortero y pilón, fue incorporada lentamente al volumen de extracto, en un baño de hielo, con agitación constante. Se dejó precipitar durante una noche a 4°C. Posteriormente se centrifugó a 10.000 g a 4°C y el precipitado obtenido se redisolvió en un volumen mínimo de buffer fosfato 50 mM, pH 7,0. El precipitado redisoluelto fue dializado con una solución de buffer fosfato 50 mM, pH 7,0 durante ocho horas a 4°C. Para la adsorción se empleó una matriz DEAE-celulosa empacada en una columna de 10 cm x 0,7 cm. La misma se equilibró con buffer acetato 10 mM pH 5,0. Se alimentó con 25 mL de extracto, se recogieron fracciones de 1 mL y se juntaron las fracciones que presentaron actividad enzimática (fracción B). Para la regeneración de la matriz se lavó la columna con agua destilada, buffer Tris 100 mM pH 8,0 y finalmente buffer acetato 10 mM pH 5,0. Para la cromatografía de exclusión molecular, se empacó Sephadex G-100 en una columna de 10 cm x 0,7 cm y se equilibró con buffer fosfato 50 mM pH 7,0. Se sembró una alícuota sembrada de 1 mL y se utilizó como buffer de elución el mismo empleado para equilibrar la columna. Se recogieron fracciones de 1 mL, se seleccionaron las que contenían mayor actividad enzimática y se juntaron formando una pool con alta actividad enzimática (fracción C). La muestra obtenida se liofilizó para mejorar su estabilidad. Se cuantificó el rendimiento y factor de purificación mediante la determinación del

contenido proteico (por Bradford) y de la actividad enzimática luego de cada operación. Adicionalmente, se realizaron electroforesis en condiciones desnaturalizantes en geles de poliacrilamida.

Métodos analíticos: La composición centesimal se realizó de acuerdo a la metodología recomendada (AOAC, 1995). La actividad enzimática de las PAN se determinó empleando caseinato de sodio como sustrato. Se incubaron 600 μ L de caseinato de sodio 0,65 %P/V en buffer fosfato 50 mM pH 7 con 25 μ L del extracto enzimático, durante 15 minutos a 37 °C. Se detuvo la reacción enzimática mediante el agregado de 600 μ L de ácido tricloroacético 5 %P/V, y se separó el sobrenadante mediante centrifugación a 10.000 g durante 15 minutos a 4 °C. La reacción colorimétrica se realizó posteriormente mediante la incubación de 250 μ L de una dilución al medio del reactivo Folin-Ciocalteu con 500 μ L de cada sobrenadante y 1,25 mL de carbonato de sodio 0,55 M. Asimismo, se realizó para cada caso un blanco en las mismas condiciones, en donde se adicionó ácido tricloroacético previo a la incubación del extracto enzimático con el sustrato. Se midió la absorbancia del producto coloreado a 660 nm, y se definió una unidad de actividad enzimática como la cantidad de enzima necesaria para provocar una variación de 0,01 unidades de absorbancia, en las condiciones ensayadas. Cuando se evaluó la actividad enzimática a distintos pH se utilizó aislado de proteínas de lactosuero como sustrato ya que el caseinato de sodio es insoluble entre pH 3 y 6.

Análisis estadístico: Se utilizó un diseño de Plakett-Burman para la fase exploratoria y un diseño central compuesto para la fase de optimización. Se determinó la significancia de los factores mediante análisis de la variancia o de la variable t de Student.

3. Resultados y Discusión

Con el objetivo de determinar las condiciones apropiadas para preparación de los medios de cultivo para la FES, se determinaron los IGA de los potenciales sustratos sólidos: AP, CN, CS y YM. En la Tabla 1 se muestran los valores obtenidos.

Tabla 1. Índice de ganancia de agua de los sustratos sólidos evaluados

Sustrato sólido	IGA (mL H ₂ O / g sustrato sólido)
AP	3,8 ± 0,4
CN	6,9 ± 0,2
CS	3,6 ± 0,7
YM	4,0 ± 0,4

Dentro de los SS no inertes evaluados, los más adecuados para la FES serían la cáscara de naranja y la yerba mate, debido a que por su elevado valor de IGA, su humedad puede modificarse durante el cultivo (Robledo et al., 2008).

Luego de 7 días de incubación a 35 °C, se observó desarrollo apropiado de *A. niger* en los medios compuestos por YM y CN mientras que el AP no permitió el desarrollo de *A. niger*. En la Figura 2 se muestran fotografías del crecimiento de *A. niger* en medios constituidos por YM.



Figura 2. Evolución del desarrollo de *A.niger* por FES en YM. Tiempo de incubación: 1, 3, 5, 7 y 10 días (Figuras A, B, C, D, y E, respectivamente).

Si bien el crecimiento de *A. niger* en CS resultó intermedio, la actividad peptidasa obtenida en dicho medio resultó superior al resto, comparable con la obtenida en el medio constituido por CN. De esta manera, se seleccionaron estos dos SS para la producción de peptidasas de *A. niger* por FES. En la Tabla 2 se muestra la composición centesimal de estos SS.

Tabla 2. Composición centesimal de los sustratos sólidos seleccionados

Sustrato sólido	CN	CS
Humedad (%)	9,0 ± 0,2	8,4 ± 0,3
Lípidos (%)	1,1 ± 0,5	0,6 ± 0,3
Proteína (%)	4,2 ± 0,1	8,3 ± 0,2
Cenizas (%)	3,1 ± 0,2	4,9 ± 0,2
Fibras (%)	28,7 ± 0,4	16,9 ± 0,3
Carbohidratos (%)	54 ± 1	61 ± 1

La CS posee mayor proporción de proteínas, es por esto que, a pesar de que el crecimiento de *A. niger* fue más lento en este medio, la producción de peptidasa se incrementó.

Se realizó un ensayo de exploración para determinar los factores que afectan más significativamente la producción de peptidasas de *A. niger*. Se encontró que la relación CS/CN, en el rango ensayado, no es significativa, por lo que se decidió continuar trabajando con una relación 0,25. Por otra parte, tampoco afectaron significativamente tiempo y temperatura de incubación, inóculo y la concentración de K_2HPO_4 . Se realizó la optimización de los dos factores significativos: pH inicial y concentración de $NaNO_3$ fijando las demás condiciones de la siguiente manera: relación CS/CN 0,25, tiempo de incubación 5 días, temperatura

30°C, inóculo 5000 conidios y concentración de K_2HPO_4 250 mM en medio líquido. En la Figura 3 se muestra la superficie de respuesta de la actividad peptidasa. Puede observarse que el máximo de actividad peptidasa se encuentra cuando el pH inicial del sistema es 7,0 y la concentración de $NaNO_3$ en el medio líquido es 3,9 g/L. La validación se llevó a cabo realizando 5 réplicas de la fermentación en las condiciones predichas como óptimas y se obtuvo una actividad de $(69 \pm 8) U mL^{-1} min^{-1}$, que coincide con $62,1 U mL^{-1} min^{-1}$, la que predice la ecuación que modela los resultados del proceso de optimización.

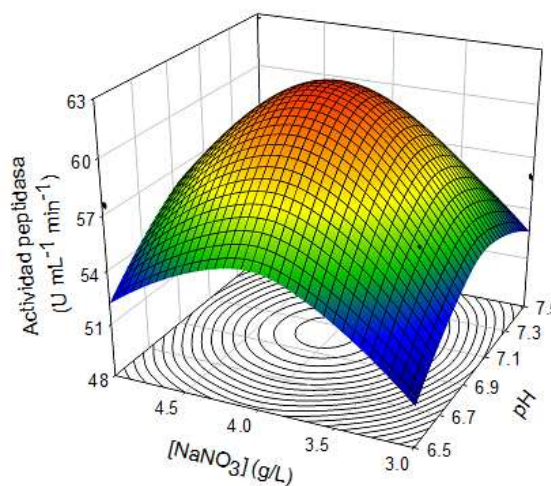


Figura 3. Superficie de respuesta de la actividad enzimática de las PAN en función de pH y la concentración de $NaNO_3$ en el medio líquido

Se ensayaron varias operaciones unitarias en diferentes intentos para clarificar, aislar y estabilizar las peptidasas: tratamiento con carbón activado; fraccionamiento de sulfato de amonio seguido de diálisis; adsorción en matriz de DEAE-celulosa y filtración en gel en Sephadex G-100; liofilización.

El tratamiento con carbón activado redujo significativamente la coloración del extracto, sin embargo también se perdió un 60 % de la actividad enzimática. El fraccionamiento con sulfato de amonio no fue apropiado para las PAN ya que la actividad peptidasa disminuyó abruptamente (de 67 a $17 U mL^{-1} min^{-1}$) después de la diálisis. El efecto negativo del fraccionamiento del sulfato de amonio en la actividad enzimática se informó anteriormente (Osman et al., 1969) para una enzima coagulante de la leche obtenida de *A. niger*. Por otra parte, la liofilización de la PAN produjo una pérdida de un 42% de actividad enzimática.

Las mejores condiciones para purificar las PAN fueron la adsorción en una matriz de DEAE-celulosa seguida de filtración en gel en Sephadex G-100. Los resultados se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Evaluación del proceso de purificación de la PAN

Fracción	Factor de purificación	Rendimiento (%)
A	1,00	100
B	1,91	90
C	9,31	36

Se realizaron electroforesis desnaturalizantes en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE) para evaluar el proceso de purificación de las PAN (Figura 4). En las calles correspondientes a la fracción A se observan dos bandas de peso molecular 14 y 16 kDa. Las mismas son más intensas en la calle correspondiente a la fracción B, lo cual es consistente con la purificación de las PAN. Por otra parte, la filtración en gel diluyó significativamente las muestras, lo que se refleja en la disminución en la intensidad de las bandas en la calle 3.

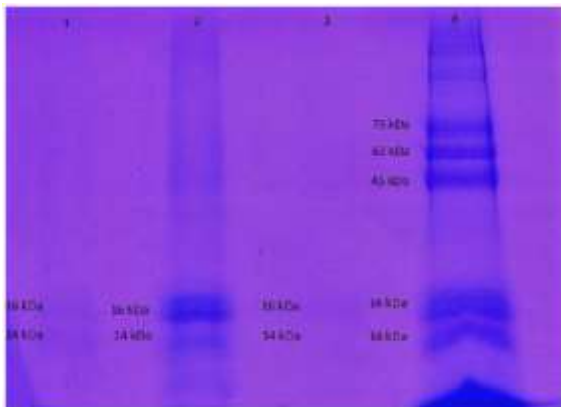


Figura 4. SDS-PAGE. Calle 1: extracto obtenido luego de centrifugar (fracción A); Calle 2: Eluido de la columna de DEAE-celulosa, fracción (B); Calle 3: Eluido de la columna de exclusión molecular, fracción C; Calle 4: Marcador de peso molecular.

Se caracterizaron las PAN determinando la actividad enzimática a distintos pH y temperaturas así como su estabilidad en dichas condiciones.

Como se puede observar en la Figura 5, la actividad peptidasa fue máxima a pH 10 y resultó superior al 80% en el rango de pH de 7 a 12. Asimismo, las peptidasas comerciales de microorganismos tienen una actividad máxima en el amplio rango de pH del 8.0-12.0 (Yadav et al., 2015). El perfil de estabilidad de pH de PAN mostró que es altamente estable en el

rango de pH 4-11, reteniendo más del 80% de su actividad enzimática.

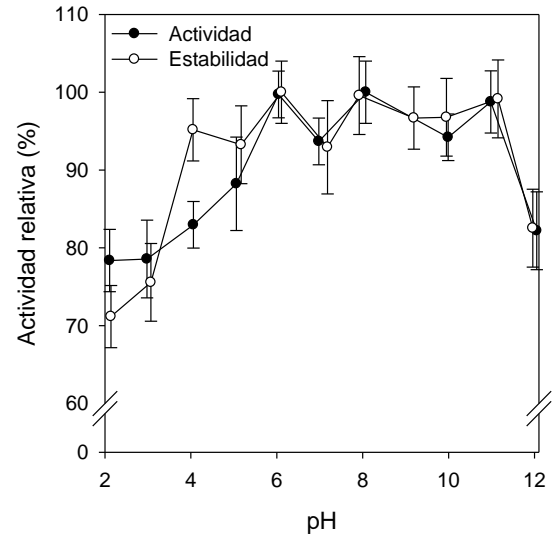


Figura 5. pH óptimo (círculos negros) y estabilidad en función del pH (círculos blancos) de las PAN

En la Figura 6 se muestra la dependencia de la actividad peptidasa con la temperatura y la estabilidad térmica de las PAN.

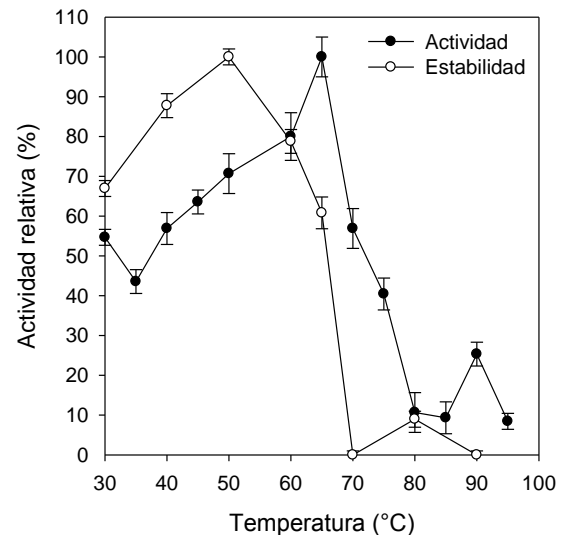


Figura 6. Temperatura óptima (círculos negros) y estabilidad térmica (círculos blancos) de las PAN

La temperatura óptima resultó 65 ° C, similar a la encontrada para las peptidasas de *Bacillus sp* (Beg and Gupta, 2003; Deng et al., 2010) aunque más alta que la temperatura óptima informada para peptidasas purificadas de *Aspergillus sp* (Tunga et al., 2003;

Wang et al., 2005). Se destaca que esta peptidasa retiene al menos un 40 % de su actividad en un rango amplio de temperatura (30 a 75 °C). Por otro lado, se estudió la estabilidad térmica de la PAN. La misma fue estable en el rango de 30-65 °C, encontrándose la mayor actividad peptidasa cuando la PAN se incubó a 50 °C. Cabe señalar que la máxima actividad peptidasa se alcanzó a 65 °C y que esta temperatura se encuentra en el límite del rango de estabilidad de la PAN. Con el fin de determinar el tiempo apropiado para que la PAN pueda utilizarse alrededor de esta temperatura, PAN se incubó a 60 y 65 °C durante 180 min y se midió la actividad peptidasa periódicamente. A 60 °C la actividad peptidasa no se alteró durante el tiempo analizado ($p = 0,93$); sin embargo, a 65 °C, la actividad peptidasa se redujo al 40% en 80 min de incubación y disminuyó al 20% a los 180 min (Figura 7).

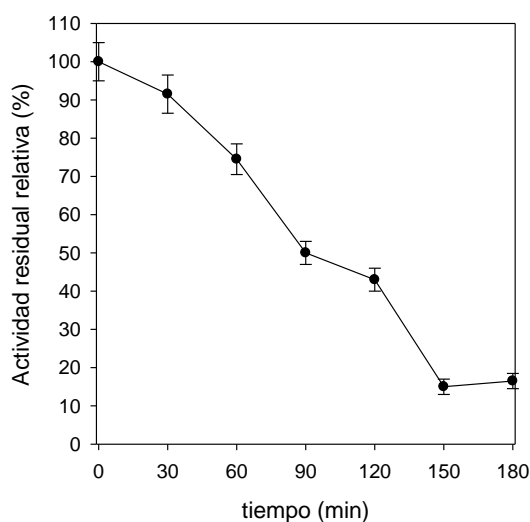


Figura 7. Actividad enzimática de las PAN a 65°C en función del tiempo de deincubación

Teniendo en cuenta estos resultados, se propone que la temperatura más elevada apropiada para llevar a cabo una proteólisis con PAN es 60 °C.

4. Conclusiones

Se encontró un medio de cultivo a base de cáscara de naranja y cascarilla de soja apropiado para el crecimiento y la producción de peptidasas de *A. niger*, optimizándose las condiciones de fermentación. Se ensayaron diversos métodos de clarificación, purificación y estabilización de la PAN, encontrándose que lo más apropiado es la separación por adsorción en una matriz de DEAE-celulosa seguida de filtración en gel en Sephadex G-100. Se determinaron los rangos de pH y temperatura apropiados para la proteólisis teniendo en cuenta la actividad en cada condición así como estabilidad y la cinética de inactivación. Se

estableció que la proteólisis utilizando PAN debe ser llevada a cabo en el rango de pH entre 4 y 11 y en el rango de temperatura entre 30 y 60 °C.

5. Referencias

- Abidi F., Aissaoui N., Lazar S., Marzouki M.N. (2014) Purification and biochemical characterization of a novel alkaline protease from *Aspergillus niger*. Use in antioxidant peptides production. *J. Mater. Environ. Sci* 5:1490-1499.
- AOAC. (1995) Official methods of análisis. 16ta. ed. ed., Virginia, EEUU.
- Barthomeuf C., Pourrat H., Pourrat A. (1992) Collagenolytic activity of a new semi-alkaline protease from *Aspergillus niger*. *Journal of fermentation and bioengineering* 73:233-236.
- Beg Q.K., Gupta R. (2003) Purification and characterization of an oxidation-stable, thiol-dependent serine alkaline protease from *Bacillus mojavenensis*. *Enzyme and Microbial Technology* 32:294-304. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(02\)00293-4](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(02)00293-4).
- Berry D.R., Paterson A. (1990) Enzymes in the food industry, *Enzyme Chemistry*, Springer. pp. 306-351.
- Daroit D.J., Corrêa A.P.F., Brandelli A. (2011) Production of keratinolytic proteases through bioconversion of feather meal by the Amazonian bacterium *Bacillus* sp. P45. *International Biodeterioration & Biodegradation* 65:45-51.
- Deng A., Wu J., Zhang Y., Zhang G., Wen T. (2010) Purification and characterization of a surfactant-stable high-alkaline protease from *Bacillus* sp. B001. *Bioresource Technology* 101:7100-7106. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.03.130>.
- Lombardi J., Pellegrino J.M., Soazo M., Corrêa A.P.F., Brandelli A., Risso P., Boeris V. (2018) Mineral fortification modifies physical and microstructural characteristics of milk gels coagulated by a bacterial enzymatic pool. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 161:296-301.

- Orzua M.C., Mussatto S.I., Contreras-Esquivel J.C., Rodriguez R., de la Garza H., Teixeira J.A., Aguilar C.N. (2009) Exploitation of agro industrial wastes as immobilization carrier for solid-state fermentation. *Industrial Crops and Products* 30:24-27.
- Osman H., Abdel-Fattah A., Abdel-Samie M., MABROUK S.S. (1969) Production of a milk-clotting enzyme preparation by *Aspergillus niger* and the effect of various factors on its activity. *Microbiology* 59:125-129.
- Pandey A. (2003) Solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal* 13:81-84.
- Robledo A., Aguilera-Carbó A., Rodriguez R., Martinez J.L., Garza Y., Aguilar C.N. (2008) Ellagic acid production by *Aspergillus niger* in solid state fermentation of pomegranate residues. *Journal of industrial microbiology & biotechnology* 35:507-513.
- Siala R., Kamoun A., Hajji M., Abid L., Gharsallah N., Nasri M. (2009) Extracellular acid protease from *Aspergillus niger* II: purification and characterization. *African Journal of Biotechnology* 8.
- Takahashi K., Inoue H., Sakai K., Kohama T., Kitahara S., Takishima K., Tanji M., Athauda S., Takahashi T., Akanuma H. (1991) The primary structure of *Aspergillus niger* acid proteinase A. *Journal of Biological Chemistry* 266:19480-19483.
- Tang J.E., Moore D.R., Kujbida G.W., Tarnopolsky M.A., Phillips S.M. (2009) Ingestion of whey hydrolysate, casein, or soy protein isolate: effects on mixed muscle protein synthesis at rest and following resistance exercise in young men. *Journal of applied physiology* 107:987-992.
- Tunga R., Shrivastava B., Banerjee R. (2003) Purification and characterization of a protease from solid state cultures of *Aspergillus parasiticus*. *Process Biochemistry* 38:1553-1558.
- Wang S.-L., Chen Y.-H., Yen Y.-H. (2005) Purification and characterization of a serine protease extracellularly produced by *Aspergillus fumigatus* in a shrimp and crab shell powder medium. *Enzyme and Microbial Technology* 36:660-665.
- Yadav S.K., Bisht D., Tiwari S., Darmwal N.S. (2015) Purification, biochemical characterization and performance evaluation of an alkaline serine protease from *Aspergillus flavus* MTCC 9952 mutant. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 4:667-677.

22TCA. Aplicación de hidrolizados de residuos de merluza (*Merluccius hubbsi*) en el cultivo de *Saccharomyces cerevisiae*

Application of hake residue hydrolysates (*Merluccius hubbsi*) in the culture of *Saccharomyces cerevisiae*

Andrea L. Salomone ^{1*}; Marina del C. Vittone ¹ y Agueda E. Massa ^{1,2}

- (1) Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP).
(2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)
Paseo Victoria Ocampo N°1, Mar del Plata, Argentina
[*asalomone@inidep.edu.ar](mailto:asalomone@inidep.edu.ar)

Resumen

Durante el procesamiento de pescados se generan residuos que constituyen más del 40% del peso total de los desembarques pesqueros. En este estudio se elaboró un hidrolizado enzimático a partir de residuos de *Merluccius hubbsi* y se evaluó como promotor de crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae*. La materia prima se sometió a una hidrólisis utilizando una proteasa alcalina (pH 8,0±0,5; 55,0±3,0°C, 2 horas). La composición química del hidrolizado incluyó compuestos orgánicos (proteínas 9,50%, péptidos <6KDa, aminoácidos, ácidos grasos omega-3) y minerales. El efecto sobre el crecimiento de *S. cerevisiae* se evaluó suplementando el medio YPD diluido (1:4) con el hidrolizado a dos concentraciones: 1 mg/ml (A) y 0,1 mg/ml (B) de proteína, y se determinó por absorbancia (OD₆₇₀). La curva de crecimiento con medio A fue similar a la obtenida utilizando medio YPD completo, verificándose un incremento del 47% de biomasa obtenida respecto al medio completo. Con medio B el crecimiento no fue aceptable. Estos resultados indican que el hidrolizado aporta nitrógeno y minerales para un crecimiento eficaz de *S. cerevisiae*. En este sentido, la utilización de hidrolizados obtenidos a partir de subproductos pesqueros podrían considerarse una alternativa económicamente viable y ecológicamente sustentable con potencial aplicación en la producción de levaduras.

Palabras clave: Subproductos pesqueros, hidrolizado enzimático; *Saccharomyces cerevisiae*; biotecnología.

Abstract

Waste generated during the processing of fish constitutes more than 40% of the total weight of the fishing landings. In this study an enzymatic hydrolyzate was elaborated from *Merluccius hubbsi* by-products and it was evaluated as growth promoter of *Saccharomyces cerevisiae*. The raw material was subjected to hydrolysis using an alkaline protease (pH 8.0±0.5, 55.0±3.0 °C, 2 hours). Chemical composition of the hydrolyzate included organic compounds (9.50% proteins, peptides <6KDa, amino acids, omega-3 fatty acids) and macro and micronutrients. The effect on the growth of *S. cerevisiae* was evaluated by supplementing the diluted YPD medium (1:4) with the hydrolyzate with 1 mg / ml (A) and 0.1 mg / ml (B) of protein, and determined by absorbance (OD₆₇₀). The growth curve with medium A was similar to that obtained using complete YPD medium. Biomass was 47% higher in medium A than in YPD complete medium. With medium B the growth was not acceptable. These results indicate that the hydrolyzate provides nitrogen, macro and micronutrients for the growth of *S. cerevisiae*. In this sense, the use of hydrolysates obtained from fishery by-products could be considered an economically viable and ecologically sustainable alternative with potential applications in yeast culture.

Keywords: Fishery by-products, enzymatic hydrolyzate; *Saccharomyces cerevisiae*; biotechnology.

1. Introducción

La merluza (*Merluccius hubbsi*) es una especie euritérmica y de hábito demersal - pelágico que se distribuye ampliamente en el Atlántico Sudoccidental, entre las latitudes de 22°S y 55°S

(Cousseau y Perrota, 1998). Esta especie, que es la base de la industria pesquera argentina, presentó en el año 2016 capturas superiores a las 240 mil toneladas, siendo la ciudad de Mar del Plata el principal puerto de desembarque y donde se asientan la mayoría de las empresas procesadoras. Se la comercializa fundamentalmente como filete congelado y en menor proporción descabezada y eviscerada (H&G). Estas formas de venta generan un porcentaje superior al 40% de residuos, constituidos básicamente por la cabeza, las vísceras, la piel y el esqueleto. Dichos residuos o subproductos presentan proteínas que contienen naturalmente un buen balance de aminoácidos, lípidos ricos en ácidos poliinsaturados omega-3, minerales y otros biocompuestos de interés comercial (Sudaryono *et al.* 1995; El-Sayed 1999; Massa *et al.*, 2016) que pueden ser utilizados en distintos sectores industriales. En este sentido, el principal objetivo de los investigadores y tecnólogos es aprovechar estos subproductos pesqueros mediante procesos tecnológicos y biotecnológicos permitan mantener las propiedades de esta materia prima y obtener productos de valor agregado (Ghaly *et al.*, 2013).

Una de las principales líneas de investigación es la hidrólisis enzimática. Mediante este procedimiento, enzimas proteolíticas exógenas digieren las proteínas presentes en los residuos pesqueros obteniéndose básicamente dos fracciones de importancia comercial: una fase soluble denominada hidrolizado proteico de pescado y una fracción lipídica (Ramakrishnan *et al.*, 2013; Wisuthiphaet *et al.*, 2016;). Este tipo de hidrolizados proteicos incluyen aminoácidos libres y péptidos de bajo peso molecular que varían en proporción y composición de acuerdo a la enzima utilizada, las condiciones de la hidrólisis y de la fuente proteica (materia prima).

Distintos estudios han demostrado la presencia de péptidos con propiedades bioactivas. Estos péptidos, que mayormente están constituidos por entre 2 y 20 residuos de aminoácidos, se definen como moléculas que tienen alguna función biológica, más allá de su valor nutricional. Se han documentado propiedades antioxidantes (Zhang *et al.*, 2017), antihipertensivas (Sun *et al.*, 2017), antimicrobianas (Ryan *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2017) y antitumorales (Qian *et al.*, 2016). Además, los hidrolizados proteicos pueden utilizarse como suplemento en alimentación humana y animal (Hou *et al.*, 2017), como bioestimulantes en cultivos agronómicos (Wang *et al.*, 2014) y como ingrediente en cultivos de microorganismos de interés comercial (Martone *et al.*, 2005). El objetivo de este estudio fue elaborar y caracterizar un hidrolizado enzimático a partir de subproductos generados en el procesamiento de merluza y evaluar su capacidad como promotor de crecimiento de *S. cerevisiae*.

2. Materiales y métodos

Elaboración de Hidrolizado Proteico (HP).

Se utilizó como materia prima residuos procedentes de la industria procesadora de merluza, constituidos principalmente por cabezas, vísceras, espinazos y pieles. Éste fue transportado al “Laboratorio de Tecnología de los Productos Pesqueros” del INIDEP, donde se trituro en una picadora de carne marca FREIRE con una placa perforada (orificios de 4 mm) y se homogeneizó hasta formar una pasta. Posteriormente se acondicionó en bolsas de polietileno y se congeló a -25 °C, hasta su posterior uso.

La hidrólisis enzimática se realizó en un reactor termostaticado con agitación constante. Se mezclaron partes iguales de residuo homogenizado y agua destilada. La mezcla se estabilizó en las condiciones óptimas de la enzima utilizada (pH 8,0 ± 0,5 y la temperatura en 55,0 ± 3,0°C).

El proceso de hidrólisis se inició con el agregado de la proteasa alcalina Purazyme AS 60L (alkaline serine proteasa, *Bacillus licheniformis*; producto considerado GRAS (Generally Recognized as Safe), con una relación enzima / materia prima del 1 %, siendo el pH controlado por la adición de NaOH 2M. La reacción enzimática tuvo una duración de 2 horas. Completado este período la muestra fue acidificada hasta pH 4 con ácido fosfórico. Finalmente, el hidrolizado fue filtrado utilizando un tamiz Tyler N° 40 (420 µ) para la separación de espinas, huesos, etc., y el producto final fue almacenado a 4 °C hasta su uso en distintos bioensayos.

Caracterización química del HP

Se realizó análisis químico proximal del hidrolizado:

- Proteínas: Método Kjeldahl (AOAC, 1990).
- Proteínas solubles: Lowry *et al.* (1951).
- Humedad: Desecación en estufa a 105°C (AOAC, 1995).
- Cenizas: Calcinación en mufla a 550°C (AOAC, 1990).
- Extracto etéreo: Método de Randal (AOAC, 1990).

Se determinó la composición de macro y micronutrientes:

- Materia orgánica: Volumetría.

- Nitrógeno total: Métodos varios.
- Nitrógeno orgánico: Método Kjeldahl (AOAC, 1990).
- Carbono orgánico total: Volumetría.
- Magnesio: Cromatografía iónica.
- Fósforo: Método Iram 15013.
- Calcio: Método Iram 15714.
- Boro, sodio, sílice, potasio, cobalto, zinc, manganeso, hierro y azufre: Espectrofotometría de Absorción Atómica.

La calidad del hidrolizado obtenido, se evaluó mediante la determinación de Nitrógeno Básico Volátil Total (NBVT), de acuerdo al método recomendado por el Consejo de Comunidad Económica Europea (95/149/CE).

Efecto del HP sobre el crecimiento de *S. cerevisiae*

Se utilizó *S. cerevisiae* (producto comercial, marca *Levex*). Para obtener un cultivo metabólicamente estable, se inocularon 2 g del liofilizado en 100 ml de medio YPD completo (Medio YPDc, 1% levadura, 2% peptona; 2% glucosa) en erlemeyer de 500 ml por 48 hs a $30,0 \pm 0,5$ °C con agitación a 150 rpm. Para determinar la viabilidad del cultivo se realizó recuento de colonias en agar YPDc a 24 y 48 hs de iniciado el mismo. Se determinó el volumen para inocular 1×10^4 UFC (unidades formadoras de colonias) en los ensayos, por medida de absorbancia (OD670). El método de cultivo fue monofásico (sin el agregado de medio de cultivo nuevo).

Para evaluar la capacidad del hidrolizado como suplemento nutricional, se realizaron 4 ensayos de crecimiento en los siguientes medios de cultivos: YPD completo (YPDc), YPD diluido 1:4 con agua destilada estéril (YPDd) (ambos utilizados como controles), e YPDd suplementado con hidrolizado a una concentración final de 1 mg/mL de proteína total (Medio A), e YPDd suplementado con hidrolizado a una concentración final de 0,1 mg/mL de proteína total (Medio B).

Los cultivos con 1×10^4 UFC en un volumen final de 20 ml, se incubaron en estufa a $30,0 \pm 0,5$ °C con agitación a 150 rpm, y se midió la absorbancia a 670 nm, tomando alícuotas a diferentes tiempos durante 48 hs.

La determinación de biomasa de las células se realizó a las 24 hs de cultivo, donde ocurre el inicio de la fase exponencial de crecimiento, en cultivos de 50 ml incubados en las mismas condiciones arriba detalladas. En paralelo a cada ensayo se determinó la viabilidad de las células mediante ensayo de

recuento en placa, en Agar YPD. Se sembraron en superficie, diferentes diluciones de los cultivos de 24 hs. por duplicado. Se realizó el recuento de las placas que contenían entre 50 y 200 UFC. Para el cálculo del rendimiento de biomasa, las células fueron cosechadas por centrifugación a 4000 rpm y 4 °C luego, de 24 hs. de cultivo.

Análisis estadísticos

Todos los ensayos se realizaron por duplicado, y los datos se expresaron como la media \pm desvío estándar. Los resultados fueron analizados estadísticamente mediante el análisis de la varianza (ANOVA) utilizando un intervalo de confianza del 95 % ($p < 0.05$) (GraphPad Prism).

3. Resultados y Discusión

Hidrólisis Enzimática

La hidrólisis enzimática se realizó exitosamente utilizando la proteasa alcalina Purazyme AS 60 L en las condiciones descriptas. El hidrolizado enzimático obtenido a partir de residuos de merluza presentó compuestos orgánicos y minerales. En la Tabla 1 se detallan los resultados del análisis químico proximal del hidrolizado.

Tabla 1. Análisis proximal del hidrolizado proteico.

ANÁLISIS PROXIMAL g/100g de producto	HP
Proteínas	8,01 \pm 0,51
Proteínas Solubles	9,50 \pm 0,30
Extracto Etéreo	1,29 \pm 0,11
Cenizas	2,20 \pm 0,05
Humedad	88,85 \pm 0,06

El contenido y valores de macro y micronutrientes se detallan en las Tablas 2 y 3. El Nitrógeno Básico Volátil Total (NBVT) fue $44,24 \pm 0,06$ mg N/100 g de hidrolizado, valor aceptable dentro de los parámetros de calidad.

Tabla 2. Macronutrientes presentes en los hidrolizados proteicos.

MACRONUTRIENTES	HP
-----------------	----

g/100g de producto	
Materia orgánica	10,90
Nitrógeno total	0,95
Nitrógeno orgánico	0,94
Carbono orgánico total	6,33
Magnesio	0,07
Potasio	0,035
Fósforo total	0,34
Calcio	0,24
Azufre	0,01

Tabla 3. Micronutrientes presentes en el hidrolizado proteico.

MICRONUTRIENTES mg/100g de producto	HP
Boro	<0,01
Sodio	42,0
Sílice	0,0005
Cobalto	<0,010
Zinc	0,764
Manganeso	0,016
Hierro	0,365

Efecto del hidrolizado sobre el crecimiento de *S. cerevisiae*

Las curvas de crecimiento de las levaduras, tanto en medio YPD completo como en los diluidos 1:4 (suplementados y sin suplementar), presentaron la misma cinética de crecimiento hasta las 24 hs de cultivo. Transcurrido este periodo, los cultivos en los medios YPDd y B, mostraron fases de crecimiento exponenciales más cortas, seguidas de fases estacionarias mínimas, antes del inicio de la fase de

muerte, al compararlos con el medio YPDc y Medio A. En éstos dos últimos, la fase estacionaria se prolongó al menos hasta las 48 hs de cultivo, con lo que se retrasó la fase de muerte (Figura 1).

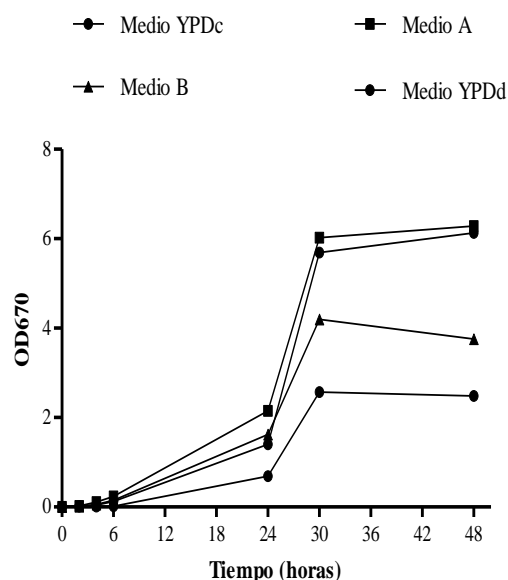


Figura 1. Efecto de diferentes concentraciones del hidrolizado sobre el crecimiento de la levadura.

Los datos obtenidos en el cálculo de rendimiento de biomasa por litro de cultivo (Figura 2), se correlacionan con los observados en las curvas de crecimiento. Tanto en el medio de cultivo diluido sin suplementar (YPDd) como en el suplementado con 0,1 mg/ml de hidrolizado (B), se agotaron los nutrientes antes que en los cultivos realizados con medio completo (YPDc) y con Medio A, con lo cual el rendimiento de biomasa por litro de cultivo fue menor. Por otro lado, al comparar el rendimiento de los cultivos utilizando los medios YPDc y A, con este último se obtuvo un 47 % más de biomasa (ANOVA, $P < 0,05$).

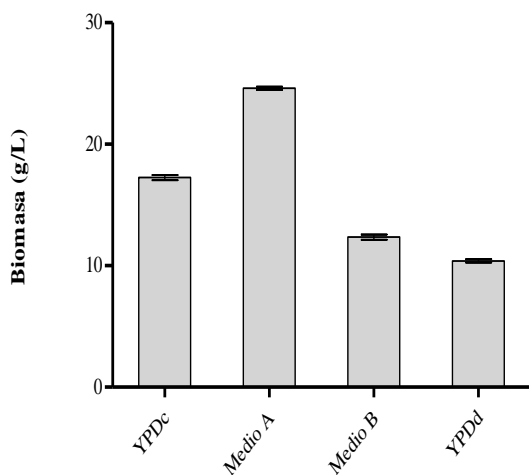


Figura 2. Rendimiento de biomasa de levadura por litro de medio de cultivo YPD.

La viabilidad de las levaduras, que fue determinada a las 24 hs de cultivo en todos los casos, se correlacionaron con los datos obtenidos por las medidas de absorbancia de las curvas de crecimiento. En la Tabla 4 se muestran los promedios de los recuentos de células correspondientes al ensayo de determinación de biomasa (Figura 2), que confirman que la biomasa generada hasta las 24 hs de cultivo fue viable en todos los casos. Utilizando los medios YPDd y B, tanto la curva de crecimiento como el rendimiento de biomasa no fueron aceptables.

Tabla 4. Recuento de UFC/ ml viables luego de 24 hs de cultivo.

MEDIO DE CULTIVO	UFC / ml
YPD completo	$15,6 \times 10^9$
Medio A	$23,3 \times 10^9$
Medio B	1×10^8
YPD diluido	9×10^7

4. Conclusiones

En éste estudio se elaboró un hidrolizado enzimático a partir de subproductos generados en el procesamiento de *M. hubbsi*, y se evaluó su capacidad como promotor de crecimiento de *S. cerevisiae*, suplementando con éste al medio de cultivo comercial YPD diluido. El patrón de

crecimiento de las células fue similar utilizando el medio de cultivo estándar para esta levadura que al diluir el medio al cuarto y suplementarlo con el hidrolizado a 1 mg/ml de concentración final de proteínas totales (Medio A). Los resultados sugieren que no sólo se economiza el gasto de medio YPD en un cuarto, sino que al suplementarlo con el HP el rendimiento de biomasa fue un 47% mayor respecto al medio YPD completo (ANOVA, $p < 0.05$).

Estos resultados indican que el hidrolizado es una buena fuente nutricional para el crecimiento de *S. cerevisiae*, ya que aporta los macroelementos esenciales requeridos por este microorganismo (carbono, nitrógeno, potasio, fósforo, azufre, magnesio y calcio), haciendo factible su utilización en la producción de esta levadura y otros microorganismos beneficiosos.

En éste sentido, la utilización de hidrolizados obtenidos a partir de subproductos pesqueros podrían considerarse una alternativa económicamente viable y ecológicamente sustentable con potenciales aplicaciones en procesos biotecnológicos.

4. Referencias

AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST). (1995). Official methods of analysis of AOAC International. 16 th Edition. (Ed.) P. A. Cunniff. Arlington, Virginia, USA.

AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST). (1990). Official methods of analysis of AOAC International. 15th Edition. (Ed.) 3rd Supplement 1992. Arlington, Virginia, USA.

Bligh, E. G., Dyer, W. J. (1959). A rapid method for total lipid extraction and purification, Can. J. Biochem. Physiol. 37: 911-917.

CEE /149/95. Consejo de Comunidad Económica Europea. (1995). Establecimiento de valores limites de nitrógeno básico volátil total NBVT determinadas categorías de productos pesqueros y los métodos de análisis que deben utilizarse, Diario Oficial N° L097 del 29/04/1995: 84 - 87.

Cousseau, B.; Perrotta R.G. (1998). Peces marinos de Argentina. Biología, distribución, pesca, Instituto National de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP), Mar del Plata, Argentina. 163 p.

El-Sayed, A. F. M. (1999). Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, *Oreochromis* spp., Aquaculture, 179:149-168.

- Ghaly A., Ramakrishnan V., Brooks M., Budge S., Dave D. (2013). Fish processing wastes as a potential source of proteins, amino acids and oils: A critical review, *Microb Biochem Technol* 5:4.
- Hou Y., Wu X., Dai Z. Wang G. & Wu G. (2017). Protein hydrolysates in animal nutrition: Industrial production, bioactive peptides, and functional significance, *Journal of Animal Science and Biotechnology* 8:24.
- IRAM 15013. (1985). Productos de la industria pesquera. Método de determinación del fósforo, por la técnica volumétrica.
- IRAM 15714 (1981). Método de determinación del calcio por la técnica permanganométrica.
- Kim S.K., Mendis E. (2006). Bioactive compounds from marine processing byproducts - A review, *Food Research International* 39: 383-393.
- Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent, *J Biol Chem.* 193: 265-75.
- Martone C., Pérez Borla O., Sánchez J. (2005). Fishery by-product as a nutrient source for bacteria and archaea growth media, *Bioresource Technology* 96: 383-387.
- Massa A. E., Manca E. A., Mansilla A. Y., Mendieta J. R., Casalagué C. A. (2016). Hidrolizados proteicos de pescado a partir de residuos de la industria pesquera con potencialidad en Biotecnología, *Revista Vinculación Tecnológica*, Universidad Nacional de Mar del Plata Ed. 2017: 29.
- Qian L., Zhang Y., Liu F. (2016). Purification and characterization of a 43 kDa antioxidant protein with antitumor activity from *Pholiota nameko*, *Journal of the Science of Food and Agriculture* vol. 96, 3:1044-1052.
- Ramakrishnan V.V., Ghaly A.E., Brooks M.S., Budge S.M. (2013). Extraction of proteins from mackerel fish processing waste using alcalase enzyme, *J Bioprocess Biotechniq* 3:2.
- Ryan J.T., Paul Ross R., Bolton D., Fitzgerald G.F., Stanton C. (2011). Bioactive peptides from muscle sources: meat and fish, *Nutrients* 3: 765-791.
- Sudaryono, A.; Hoxey, M.J.; Kailis S.G.; Evans, L.H. (1995). Investigation of alternative protein source in practical diets for juvenils shrimps *Penaeus monodon*, *Aquaculture*, 134:313-323.
- Sun L., Wu S., Zhou L., Wang F., Lan X., Sun J., Tong Z., Liao D. (2017). Separation and characterization of angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from *Saurida elongata* proteins hydrolysate by IMAC-Ni²⁺, *Mar. Drugs* 15: 29.
- Wang J., Liu Z., Wang Y., Cheng W., Mou H. (2014). Production of a water-soluble fertilizer containing amino acids by solid-state fermentation of soybean meal and evaluation of its efficacy on the rapeseed growth. *Journal of Biotechnology* 187: 34-42.
- Wang X., Yu H., Xing R., Li P. (2017). Characterization, preparation, and purification of marine bioactive peptides, *Hindawi BioMed Research International*. Article ID 9746720.
- Wisuthiphaet N., Klinchan N S. & Kongruang S. (2016). Fish protein hydrolysate production by acid and enzymatic hydrolysis, *Int J Appl Sci Technol*, Vol 9, 4: 261-270.
- Zhang N., Zhang C., Chen Y., Zheng B. (2017). Purification and characterization of antioxidant peptides of *Pseudosciaena crocea* protein hydrolysates, *Molecules* 22: 57.

23TCA. Caracterización de bagazo de manzana como sustrato para la producción de biomasa de levaduras vínicas autóctonas.

Characterization of apple bagasse as a substrate for autochthonous wine yeasts biomass production.

Bravo S.^{1,2}, Morales M.², del Mónaco S.^{1,2}, Caballero A.^{1,2}.

2. Instituto de Investigación y Desarrollo en Ingeniería de Procesos, Biotecnología y Energías Alternativas. CONICET-UNComahue. Buenos Aires 1400. Neuquén, Neuquén. Argentina
3. Facultad de Ciencias y Tecnología de los Alimentos. Universidad Nacional del Comahue. Reconquista y 25 de Mayo. Villa Regina. Río Negro..

Resumen

El objetivo de este trabajo fue caracterizar un medio de cultivo a base de bagazo de manzana y ensayar su uso como sustrato para la producción de biomasa de levaduras convencionales y no convencionales indígenas de la región y seleccionadas para su uso en vinificación. Los bagazos fueron caracterizados en sus contenidos de azúcares reductores (AR), nitrógeno fácilmente asimilable (FAN), humedad, pH y polifenoles totales. A su vez, se estudiaron distintos parámetros constituyentes de un medio de cultivo completo mediante la metodología de Diseño Estadístico Experimental. Se analizaron los parámetros de crecimiento de dos levaduras vínicas patagónicas *Saccharomyces cerevisiae* F8 y *Pichia kudriavzevii* P15, con diseños Placket-Burman y comparando los sustratos bagazo de manzana y melaza de caña, que es el sustrato comúnmente utilizado para el desarrollo de biomasa. La cinética de los procesos se caracterizó analizando DO en función del tiempo y se ajustaron los resultados al modelo de Gompertz modificado. Los resultados evidenciaron que el bagazo de manzana constituye una alternativa mejorada para la producción de biomasa de levaduras que la melaza de caña.

Palabras clave: biomasa, levaduras, bagazo, manzana.

Abstract

The objective of this work is to characterize a bagasse apple based culture medium and to test its use as a substrate for the biomass production of conventional and unconventional native yeasts selected for its use in winemaking. The bagasse was characterized in its contents of reducing sugars (AR), easily assimilable alcohol (FAN), humidity, pH and total polyphenols. At the same time, apple bagasse was analyzed as a constituent of a complete culture medium through the Experimental Statistical Design methodology. Growth parameters of Patagonian wine yeasts *Saccharomyces cerevisiae* F8 and *Pichia kudriavzevii* P15 were analyzed with Placket-Burman designs comparing the substrates apple bagasse and cane molasse, which is the commonly used substrate for biomass development. The kinetics of the processes were modelled using Gompertz modified function. The results showed that apple bagasse is an improved alternative for the production of yeast biomass than cane molasse.

Keywords: Biomass, yeasts, bagasse, apple.

1. Introducción

En los últimos años, la vitivinicultura nacional ha recuperado el lugar de relevancia que históricamente tuvo dentro de las agroindustrias. En la región del Comahue (Patagonia noroccidental) este renacer de la vitivinicultura se tradujo en una significativa reactivación de la actividad en las áreas productivas

históricas (Alto Valle de Río Negro) y en el desarrollo de nuevas áreas (Departamento de Añelo, provincia del Neuquén). Con clima y suelos aptos para una vitivinicultura de calidad (Le Guillou 2000), la producción regional está mayoritariamente orientada a la elaboración de vinos tintos (80%) jóvenes y secos de variedades de vid aromáticamente neutras, algunas de las cuales como

Pinot noir y Merlot, han encontrado en la región las condiciones agroecológicas óptimas para expresar todo su potencial enológico (Weizman 2009, Catania and Avagnina 2010). En este tipo de vino la biota microbiana responsable de la vinificación tiene una significativa influencia sobre la calidad sensorial del mismo, en particular sobre su aroma (Fleet 2003). En un mercado internacional globalizado y con sobreoferta, el control de la biota de levaduras responsable de conducir la fermentación alcohólica (FA), proceso central de la vinificación, resulta clave para obtener regularidad en la calidad de los vinos, condición indispensable para mantener y mejorar su competitividad en los nichos de mercado ya ganados y para ganar nuevos nichos.

El uso de cultivos iniciadores desarrollados a partir de cepas de levaduras indígenas de cada área productiva es actualmente una práctica en expansión en la vitivinicultura mundial con el fin de obtener vinos de calidad controlada y además, diferencial. Estas cepas ecotípicas, mejor adaptadas a las características agroecológicas de los cultivares de su región, además de presentar una mejor capacidad de competencia que las foráneas para controlar exitosamente los procesos (Lopes et al. 2007), respetan la tipicidad del terroir (Fleet 2008), expresando en los vinos las notas organolépticas distintivas del mismo. No obstante, los cultivos iniciadores de la FA que actualmente se comercializan en el mercado están constituidos por cepas de levaduras procedentes de las regiones vitivinícolas más importantes del mundo excepto de Argentina. Los estudios sobre ecología de levaduras asociadas a vinificaciones de la patagónica realizando en el ámbito de la UNComahue desde el año 1993 han permitido constituir una importante colección de cultivos de cepas de levaduras indígenas de la región (del Mónaco et al. 2016); con alguna de estas cepas de probada aptitud para la elaboración de vinos de calidad tanto a escala de laboratorio (del Mónaco et al. 2014a) como piloto (del Mónaco et al. 2014b), se pretende ahora desarrollar y comercializar cultivos iniciadores locales en la forma de levadura seca activa (LSA) para su uso en la producción vitivinícola regional.

En la región del Comahue (Alto Valle de Río Negro y Departamento Confluencia de Neuquén) la producción de frutas de pepitas (manzanas y peras) constituye uno de los pilares de su economía; en particular, la provincia Río Negro es la primera productora nacional de manzanas y peras. Si bien la producción primaria se comercializa mayoritariamente en fresco, en el caso de la manzana el 40% se destina a la industria, principalmente para la producción de jugos concentrados y más recientemente, exprimidos (not from concentrated). La cantidad de bagazo generado durante la producción de este último tipo de jugos

representa el 35% de la fruta procesada, por lo que, su revalorización en la producción de biomasa de levaduras además de resolver el problema de su disposición sin generar pasivos ambientales, mejorará la rentabilidad de la empresa productora y contribuirá a la diversificación productiva regional. Por este motivo nuestro objetivo fue caracterizar un medio de cultivo a base de bagazo de manzana y ensayar su uso para la producción de biomasa de levaduras indígenas de la región pertenecientes a las especies *Saccharomyces cerevisiae* y *Pichia kudriavzevii*, de probada aptitud para uso enológico (del Mónaco et al. 2016). La propagación de la biomasa es una operación central en el proceso de producción de LSA y actualmente los sustratos utilizados a escala industrial son melazas de caña de azúcar y/o de remolacha enriquecidas con diferentes fuentes nitrogenadas. Mientras en la región no existe este tipo de residuos, en este trabajo se evalúa el potencial capacidad del bagazo de manzanas, un desecho de la industria juguera regional, para ser usado como sustrato alternativo a las melazas de caña y remolacha azucareras en la propagación de la biomasa de levaduras.

2. Materiales y métodos

Levaduras Enológicas

Se estudiaron las cepas nativas *Saccharomyces cerevisiae* ÑIF8 (F8) y *Pichia kudriavzevii* (ex *Issatchenkia orientalis*) ÑNI15 (P15). Ambas cepas, aisladas de vinificaciones en tinto Patagónicas, se caracterizaron a nivel molecular como indígenas de la región (del Mónaco et al. 2015 y 2016b). Los cultivos de las levaduras almacenados en glicerol a -20°C se activaron en caldo GPY (glucosa 20g/L, peptona 10g/L, extracto levadura 10g/L, pH 5,9) a 28°C durante 24h. Luego de este periodo, los tubos fueron centrifugados y los precipitados lavados y resuspendidos en agua destilada estéril hasta obtener una concentración de $2,6 \times 10^7$ cel/mL.

Bagazo de Manzana

Los bagazos ensayados en este trabajo resultan de la elaboración de jugos naturales exprimidos de manzana (not from concentrate) libres de aditivos (envase bag in box). Para la elaboración de este tipo de jugos, la materia prima manzana es inspeccionada por control de calidad para su aceptación o rechazo, aceptándose únicamente los frutos en su estado de madurez óptimo, sanos, de aspecto fresco y consistencia firme, libres de ataques de insectos y enfermedades que demeriten la calidad interna del fruto, libres de humedad externa anormal y de cualquier olor y/o sabor extraño. Luego pasan a producción, limpieza, lavado y prensado. Después del prensado, el bagazo de manzana obtenido es un producto natural, no fermentado y sin aditivos. Se tomaron 5 muestras de 1kg de bagazo de manzana por lote de producción (aproximadamente

1500 Kg de manzana procesada por lote), analizándose cuatro lotes a razón de un lote mensual. Las muestras (20 en total) se guardaron en bolsas estériles de 1L de capacidad a -20°C. Luego, las mismas se colocaron en frascos de vidrio estériles y se les aplicó un tratamiento térmico con el objetivo de eliminar microorganismos (calentamiento fraccionado de la muestra a 70 °C durante 20 min), fueron pesadas de acuerdo a la concentración deseada y diluidas con agua estéril.

Caracterización química

Humedad: se determinó gravimétricamente, sometiendo la muestra a estufa de aire caliente a 80°C durante 24hs y presión atmosférica, hasta peso constante y se calculó por diferencia de peso.

pH: método potenciométrico utilizando un pHmetro ORION RESEARCH, model 231.

Actividad acuosa: para determinar el valor “aw” se utilizó un testo 650, una sonda de humedad de alta precisión y accesorios. Se compone de una cámara de medición de presión que se llena hasta la mitad con el producto. El tiempo de estabilización tiende aprox. 30 minutos a temperatura constante.

Azúcares reductores: la cuantificación se realizó utilizando el método de Fehling-Causse-Bonnans que se basa en la reducción del ion cúprico en medio alcalino y en caliente por parte de los azúcares reductores del bagazo.

Nitrógeno Fácilmente Asimilable: el contenido de nitrógeno fácilmente asimilable por las levaduras, (catión amonio y aminoácidos libres), se determinó por el Método de Sörensen.

Amonio: se determinó potenciométricamente utilizando un electrodo selectivo de amonio Orion Research Modelo 95.

Polifenoles totales: se cuantificaron espectrofotométricamente utilizando el método Folin Ciocalteu y curva de calibración con ácido gálico.

El análisis estadístico de los estudios fisicoquímicos se realizaron mediante ANOVA y test de Tukey, considerando significativo un $p < 0,05$, con el programa STATISTICA 8, StatSoft, 2007.

Diseño Estadístico Experimental (DEE)

Se realizaron diseños de “screening” con el objetivo de evaluar posibles factores que tuvieran influencia significativa en el crecimiento de las levaduras en estudio. Se eligieron diseños Plackett-Burman de dos niveles y con un punto central, utilizando bagazo de manzana o melaza de caña como fuentes carbonadas a modo comparativo. Se seleccionó el rango de cada uno de los parámetros usando valores normalmente utilizados para la propagación de biomasa, cuyos valores codificados se presentan en la Tabla 1. Los ensayos se llevaron a cabo mediante micro-fermentaciones en placas de 96 pocillos conteniendo los medios de cultivo sugeridos por el modelo, previamente esterilizados mediante filtración (0,20 μm de poro). Los medios se

inocularon con aproximadamente 2×10^6 células/mL de la cepa a estudiar y las curvas de crecimiento se siguieron mediante mediciones de densidad óptica a 640 nm.

Tabla 1. Relación entre los valores codificados y reales de las variables utilizadas en el diseño.

FACTORES	Valores Codificados		
	-1	0	+1
Fte. Carbonada (°Bx)*	1,0	3,5	6,0
(NH ₄) ₂ SO ₄ (g/L)	0	5	10
pH	3	5	7
Tiamina mg/L	0	1	2
Ac. Pantoténico (mg/L)	1,0	10,5	20,0
Piridoxina (mg/L)	2	11	20
Biotina (mg/L)	0,500	0,125	2,000
Mn SO ₄ (mg/L)	0	5	10
CaCl ₂ (g/L)	0,0	0,5	1,0
MgSO ₄ (g/L)	1,00	1,75	2,50
K ₂ HPO ₄ (g/L)	1,0	5,5	10,0

* Las fuentes carbonadas fueron bagazo de manzana y melaza de caña en DEE independientes.

Modelo primario

Los parámetros de crecimiento incluidos en el modelo, máxima velocidad de crecimiento (μ_{max}), valor máximo de densidad óptica alcanzado (A) y duración de la fase de lag (λ), fueron calculados para cada experiencia ajustando los datos experimentales al modelo de Gompertz modificado (Zwietering y col, 1990), cuya ecuación se detalla a continuación:

$$Y = A * \exp\{-\exp[(\mu_{\text{max}} * t) / A] * (\lambda - t) + 1\}$$

(1)

donde $Y = \ln(N_t/N_0)$, N_0 y N_t son la densidad óptica inicial y a tiempo t , respectivamente. $A = \ln(N_{\infty}/N_0)$ es el máximo valor de densidad óptica alcanzado con N_{∞} como el máximo asintótico. Los datos correspondientes a cada experiencia fueron ajustados mediante una estimación no lineal minimizando la suma de las desviaciones al cuadrado de los valores observados de la variable dependiente respecto a los predichos por el modelo.

Análisis Estadístico

La matriz del diseño experimental Plackett-Burman se obtuvo mediante la rutina Estadísticas Industriales del programa informático STATISTICA 8, StatSoft, 2007. Mediante este diseño se obtiene el siguiente polinomio lineal general:

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_4 + \dots + b_nX_n \quad (2)$$

donde b_j representa los coeficientes de regresión, cuyos valores absolutos indican el efecto de la variable X_j sobre la variable dependiente Y para los n parámetros evaluados. En la búsqueda de efectos

principales, los coeficientes de regresión se interpretan como el aumento o la disminución (coeficiente positivo o negativo) en la respuesta, cuando el factor cambia en una unidad. La validez del modelo se controló mediante el test de Bondad de Ajuste y la determinación del coeficiente R^2 (porcentaje de variabilidad de la respuesta explicado por el modelo).

El análisis estadístico de los estudios fisicoquímicos se realizaron mediante ANOVA y test de Tukey, considerando significativo un $p < 0,05$, con el programa STATISTICA 8, StatSoft, 2007.

Microfermentaciones

Se realizaron fermentaciones a escala de laboratorio en Erlenmeyer de 500 mL conteniendo 100 g de bagazo o 100 mL de suspensiones al 50% (p/v) y 10% (p/v) de bagazo en agua destilada estéril inoculados con los correspondiente cultivos de levadura de manera de tener una densidad inicial en el fermentador de 10^6 cél/mL. Los cultivos se incubaron a 30°C sin agitación. Cultivos en medio GPY caldo (100 mL) se realizaron como control. La cinética del proceso se caracterizó por recuento de levaduras viables cultivables (UFC/mL) en placas de GPY agar incubadas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ en aerobiosis durante 72h. El crecimiento de las levaduras en los distintos sustratos se ajustó al modelo de Gompertz y el análisis estadístico se realizó mediante ANOVA y test de Tukey, considerando significativo un $p < 0,05$, con el programa STATISTICA 8, StatSoft, 2007.

3. Resultados y Discusión

Con el fin de conocer la composición de los bagazos de manzanas de variedad Red Delicious y el grado de heterogeneidad entre los diversos lotes muestreados en diferentes semanas del período productivo, se realizó el análisis fisicoquímico de los mismos, en particular de aquellos parámetros que son determinantes para el crecimiento de las levaduras. Los resultados presentados en la Tabla 2 son consistentes con los valores de dichos

(ANOVA y test de Tukey con $n=5$) evidencia diferencias significativas en el porcentaje de humedad y de sólidos totales, dos parámetros relacionados entre sí, únicamente entre los lotes 1 y 2. Otros parámetros que presentaron diferencias entre los lotes analizados fueron el contenido de ART y el pH. Aunque el contenido de azúcares reductores es determinante en la propagación de biomasa de las levaduras, en las concentraciones presentadas por el bagazo las diferencias entre lotes no resultan de importancia para la producción de biomasa ya que se trata de un sustrato en exceso. Lo mismo puede decirse de las variaciones del pH, más allá de las diferencias observadas entre lotes, la acidez de los bagazos resulta la adecuada para el crecimiento de las levaduras en detrimento de las bacterias pudiendo especularse sobre una baja probabilidad de contaminación bacteriana de los cultivos durante el proceso de producción de biomasa, aunque no elimina la posibilidad de una contaminación por hongos filamentosos, generalmente presentes en la cáscara de la fruta. Una etapa inicial en condiciones de anaerobiosis eliminaría esta posibilidad. Por otra parte, la concentración de compuestos nitrogenados asimilables por las levaduras, representadas por el contenido de FAN y de NH_4^+ , no presentan diferencias significativas entre lotes. La concentración de este sustrato, en defecto respecto de los carbonados (azúcares), son determinantes para el crecimiento de las levaduras. Estos resultados obtenidos del análisis fisicoquímico permiten concluir que las variaciones observadas en la composición entre lotes no comprometen la calidad del bagazo como potencial sustrato para la propagación de biomasa. Para evaluar esta premisa, se realizaron dos Diseños Estadísticos Experimentales de selección Plackett-Burman, con bagazo de manzana y melaza de caña como fuentes carbonadas, respectivamente y a modo comparativo. El objetivo era evaluar la importancia de los distintos componentes de un medio de cultivo para el desarrollo de biomasa de levaduras, utilizando

Tabla 2. Caracterización fisicoquímica del bagazo de manzana variedad Red Delicious

Lote	% Humedad	% sólidos Totales	pH	aw	% AR.	FAN mg N* Kg	NH_4^+ mg	Polifenoles Totales
1	78,42 \pm 0,46 ^A	21,58 \pm 0,46 ^B	4,57 \pm 0,01 ^C	SD	8,22 \pm 0,5 ^A	124,8 \pm 5,5 ^A	2,57 \pm 4,0 ^A	1375,5 \pm 138,2 ^A
2	80,77 \pm 1,46 ^B	19,23 \pm 1,46 ^A	4,42 \pm 0,01 ^A	SD	11,1 \pm 1,1 ^B	140,6 \pm 5,2 ^A	0,04 \pm 0,1 ^A	2176,24 \pm 177,2 ^B
3	80,38 \pm 0,41 ^{AB}	19,62 \pm 0,41 ^{AB}	4,56 \pm 0,04 ^C	SD	9,34 \pm 0,5 ^A	126,3 \pm 11,7 ^A	0,07 \pm 0,1 ^A	1688,96 \pm 95,8 ^A
4	79,51 \pm 0,71 ^{AB}	20,49 \pm 0,71 ^{AB}	4,49 \pm 0,04 ^B	SD	9,63 \pm 0,6 ^A	133,8 \pm 9,4 ^A	0,15 \pm 0,1 ^A	1546,78 \pm 125,4 ^A

aw : actividad acuosa, AR: azúcares reductores, FAN: nitrógeno fácilmente Asimilable. SD: sin diferencias, valor experimental 99,9%. Letras distintas corresponden a diferencias significativas $p < 0,05$, $n=5$.

parámetros reportados para manzanas regionales de la misma variedad (información suministrada por Jugos SA). El análisis estadístico de los datos

ambos sustratos. El diseño evaluado con uno u otro

Tabla 3. Valores codificados para los parámetros evaluados en los diseños Plackett-Burman

#	Fuente C (°Bx)	(NH ₄) ₂ SO ₄ (g/L)	pH	T (mg/L)	AP (mg/L)	P (mg/L)	B (mg/L)	MnSO ₄ (mg/L)	CaCl ₂ (g/L)	MgSO ₄ (g/L)	K ₂ HPO ₄ (g/L)
1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1
2	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1
3	-1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1
4	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1
5	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1
6	1	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	-1
7	-1	1	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1
8	-1	-1	1	1	1	-1	1	1	-1	1	-1
9	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	1	-1	1
10	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	1	-1
11	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	1
12	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1
(C)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Número de corrida. Fuente C = fuente carbonada, bagazo de manzana o melaza de caña. T = tiamina. AP = ácido pantoténico. P = piridoxina. B = biotina.

sustrato se muestra en la Tabla 3, donde se detallan las concentraciones de todos los nutrientes evaluados en cada uno de los ensayos desarrollados.

Los parámetros de crecimiento obtenidos, μ_{max} , A y λ fueron calculados para cada uno de los 13 ensayos mediante el modelo de Gompertz modificado, por triplicado. Se evaluaron los dos sustratos utilizados en dos diseños independientes y el análisis se desarrolló para F8 y P15. Los diseños estadísticos evidenciaron que en ambas levaduras y en ambas fuentes carbonadas, los parámetros μ_{max} y A no mostraron diferencias significativas en ninguno de los coeficientes de regresión del diseño aplicado. Esto quiere decir, que para el crecimiento de ambos microorganismos, la variación de concentración de estos sustratos carbonados es indistinta al influenciar la velocidad de crecimiento o el valor máximo de densidad óptica alcanzado (A), así como tampoco se detectaron efectos significativos de ninguno de los demás parámetros evaluados, ((NH₄)₂SO₄, pH, Tiamina, Ácido Pantoténico, Piridoxina, Biotina, MnSO₄, CaCl₂, MgSO₄, K₂HPO₄) sobre el crecimiento de las levaduras, siendo el p-valor de cada uno de ellos siempre >0,05. Este resultado es muy importante en el ámbito de la microbiología industrial, ya que indica que las levaduras evaluadas presentan cinéticas de crecimiento estadísticamente comparables cuando crecen con las mínimas concentraciones de la fuente carbonada y de los nutrientes evaluados, confirmando que el medio de cultivo que se utilice para el desarrollo de biomasa no requerirá suplementaciones especiales que pudieran encarecer el proceso. Sin embargo, sí se observó que la fase lag (λ) de ambas levaduras en el medio de cultivo melaza presentó un coeficiente positivo significativo, que indica que cuanto mayor es la concentración de melaza en los medios, más largo es el periodo de adaptación de la levadura, prolongando los tiempos de fermentación. Este

resultado sugiere la necesidad de la levadura de modificar propiedades de su metabolismo para afrontar el crecimiento en esa fuente carbonada. Esta situación no se evidencia en el diseño suplementado con bagazo de manzana (Tabla 4).

Es importante destacar que un comportamiento particular de las levaduras fue observado en alguno de los medios de cultivo evaluados. La figura 1 muestra que cuando las levaduras son crecidas con bagazo de manzana, el máximo de biomasa alcanzado es independiente de la adición de fuentes nitrogenadas al medio de cultivo.

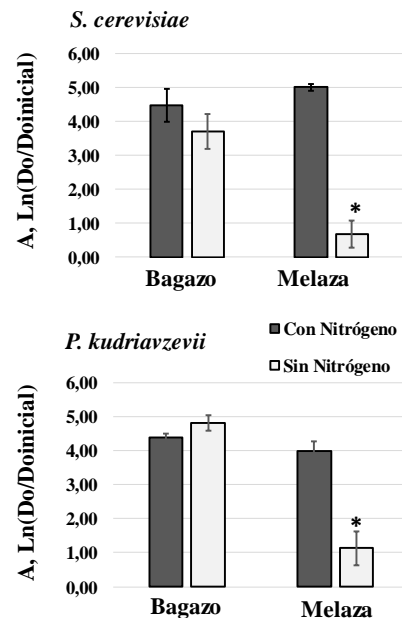


Figura 1. Comparación en el máximo de biomasa obtenida para medios de cultivo formulados con bagazo y melaza, suplementados o no con fuentes nitrogenadas. Asterisco representa diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$, $n = 3$).

Tabla 4. Coeficientes de regresión obtenidos para el parámetro duración de la fase lag (λ) para ambas levaduras en los diseños suplementados con ambos sustratos.

Coeficiente de regresión	Bagazo			Melaza			
	Valor	DE	p-valor	Valor	DE	p-valor	
F8	b ₀ (Media/Intercepto)	2,140	0,6178	0,1789	5,660	0,2216	0,0249
	b ₁ (Fuente C)	0,843	1,2860	0,6303	8,850	0,4613	0,0331
	b ₂ ((NH ₄) ₂ SO ₄)	1,882	1,2860	0,3815	-0,319	0,4613	0,6141
	b ₃ (pH)	2,836	1,2860	0,2710	-0,837	0,4613	0,3205
	b ₄ (Tiamina)	-2,465	1,2860	0,3061	1,493	0,4613	0,1906
	b ₅ (Ác. Pantoténico)	2,427	1,2860	0,3101	4,956	0,4613	0,0590
	b ₆ (Piridoxina)	2,061	1,2860	0,3550	4,069	0,4613	0,0718
	b ₇ (Biotina)	-1,186	1,2860	0,5255	0,980	0,4613	0,2800
	b ₈ (MnSO ₄)	3,885	1,2860	0,2035	-5,747	0,4613	0,0509
	b ₉ (CaCl ₂)	-2,443	1,2860	0,3084	-5,386	0,4613	0,0544
	b ₁₀ (MgSO ₄)	-1,703	1,2860	0,4117	1,249	0,4613	0,2252
b ₁₁ (K ₂ HPO ₄)	-1,501	1,2860	0,4508	2,141	0,4613	0,1351	
P15	b ₀ (Media/Intercepto)	4,754	1,3725	0,1789	5,190	0,2131	0,0261
	b ₁ (Fuente C)	-0,842	2,8572	0,8175	7,646	0,4437	0,0369
	b ₂ ((NH ₄) ₂ SO ₄)	3,527	2,8572	0,4334	0,159	0,4437	0,7797
	b ₃ (pH)	1,119	2,8572	0,7622	2,944	0,4437	0,0952
	b ₄ (Tiamina)	-2,761	2,8572	0,5108	1,183	0,4432	0,2283
	b ₅ (Ác. Pantoténico)	1,396	2,8572	0,7105	-0,231	0,4437	0,6944
	b ₆ (Piridoxina)	2,701	2,8572	0,5178	0,258	0,4437	0,6640
	b ₇ (Biotina)	-1,211	2,8572	0,7447	-0,046	0,4437	0,9329
	b ₈ (MnSO ₄)	3,253	2,8572	0,4587	-1,705	0,4437	0,1620
	b ₉ (CaCl ₂)	-3,294	2,8572	0,4548	-4,980	0,4437	0,0565
	b ₁₀ (MgSO ₄)	1,468	2,8572	0,6977	-0,927	0,4437	0,2839
b ₁₁ (K ₂ HPO ₄)	4,862	2,8572	0,3382	4,994	0,4437	0,0564	

Sin embargo, cuando ambos microorganismos crecen con melaza como fuente carbonada, el medio de cultivo sin nitrógeno evidenció una disminución significativa en el máximo de biomasa obtenido. Esto se traduce en que el bagazo de manzana posee un contenido nitrogenado suficiente para el máximo desarrollo de las levaduras, confirmando lo sugerido por el análisis fisicoquímico del sustrato. Este resultado resalta la potencial utilización del bagazo de manzana como fuente nutricional para levaduras.

Por último, para terminar de completar la caracterización del bagazo de manzana como sustrato para la propagación de biomasa, se realizaron microvinificaciones a escala de laboratorio, con distintas concentraciones de bagazo diluido en agua destilada, sin suplementar con ningún otro nutriente. Se hicieron crecer ambas levaduras estudiadas y las curvas de crecimiento se ajustaron al modelo de Gompertz modificado. Dichas curvas modeladas se presentan en la figura 2.

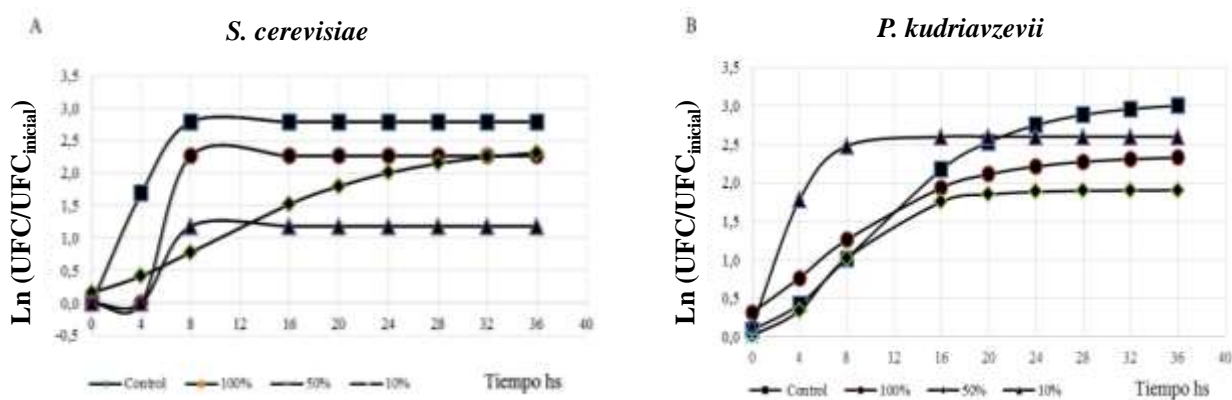


Figura 2: Perfiles cinéticos modelados expresados como Ln (UFC/UFC_{inicial}) en función del tiempo (hs) obtenidos a partir de cultivos de F8 (A) y P15 (B) realizados con concentraciones de bagazo de manzana del 10% (triángulos), 50%(rombo), 100%(circulo) y en el medio control GPY (cuadrados).

De acuerdo a los valores de los parámetros obtenidos, la mayor producción de biomasa de F8 se observó en el medio conteniendo una concentración de bagazo del 50% (A=2,43) y la de P15 en medios al 10% (A=2,60). Finalmente las diferencias en la cantidad de biomasa producida entre la mayoría de los medios experimentales y el medio control presentan al bagazo de manzana como un medio complejo completo para el crecimiento de las levaduras ensayadas.

Estos resultados indican que deberán continuarse en el futuro los ensayos de caracterización de esta fuente carbonada como sustrato para el desarrollo de biomasa, dado que el escalado y aumento de volumen de los distintos ensayos impone cada vez nuevas variables que pueden afectar la propagación de las levaduras autóctonas. Futuros diseños de optimización del medio de cultivo serán aplicados en nuestro modelo experimental.

4. Conclusiones

Aunque preliminares, estos resultados permiten concluir que el bagazo de manzana es potencialmente una buena alternativa para producir biomasa a partir de levaduras vínicas autóctonas de la región, comportándose, en las condiciones ensayadas de como un sustrato mejorado a la alternativa comúnmente usada para la propagación de levaduras, que es la melaza de caña. La expectativa a futuro es lograr un medio de cultivo adecuado para microorganismos, específicamente diseñado para el crecimiento de células de levaduras independientemente de la especie.

5. Referencias

Catania, C.; Avagnina, S. (2010). El terruño argentino. Mendoza, INTA y Editora Andina Sur. p. 111-121.

del Mónaco, S.M.; Barda, N.B.; Rubio, N.C.; Caballero, A.C.; (2014a). Selection and characterization of a Patagonian *Pichia kudriavzevii* for wine deacidification. *Journal of Applied Microbiology*, 117: 451-464.

del Mónaco, S.M.; Bravo, S.M.E.; Curilén, Y.L.; Carreño, V.A.; Caballero, A.C. (2014b). A regional starter for high quality wines: an Argentinean Patagonia experience. *Bulletin de l'OIV* 87 (998-999-1000): 217-224.

del Mónaco, S.M.; Rodríguez, M.E.; Lopes, C.A. (2015). *Pichia kudriavzevii* as a representative yeast of North Patagonian winemaking terroir. *International Journal of Food Microbiology*, 230: 31-9.

del Mónaco, S.M.; Curilén, Y.L.; Maturano, R.C.; Bravo, S.M.E.; Simes, A.B.; Caballero, A.C.;

(2016). The use of indigenous yeasts to develop high-quality Patagonian Wines. En: Morata A and Loira I Eds. *Grape and Wine Biotechnology*. Rijeka: InTech. pp. 325-344

Fleet, G.H. (2003). Yeast interactions and wine flavour. *International Journal of Food Microbiology*, 86: 11-22.

Fleet, G. (2008). Wine yeasts for the future. *FEMS Yeast Research*, 8:979-995.

Le Guillou, B. (2000). Río Negro. De la vigne dans des oasis de la Patagonie argentine. *La Vigne* 116:112-113.

Lopes, C.A.; Rodríguez, M.E.; Sangorrín, M.; Querol, A.; Caballero, A.C.; (2007). Patagonian wines: the selection of an indigenous yeast starter. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 34(8):539-546

Weizman, D. (2009). Mapa vitivinícola de Argentina. *Revista Rumbos* 326: 18-24.

Zwietering, M.H., Jongenburger, I., Rombouts, F.M., Van't Riet, K., (1990). Modeling of the bacterial growth curve. *Applied and Environmental Microbiology* 56: 1875-1881.

24TCA. Desarrollo de sistemas bicapa ensamblando alcohol polivinílico y nanocompuestos de quitosano

Development of bilayer systems assembling polyvinyl alcohol and chitosan nanocomposites

Javier Lamarra¹, Sandra Rivero¹, Adriana Pinotti^{1,2}

1 Centro de Investigación y desarrollo en Criotecnología de alimentos (CIDCA), Facultad de Ciencias Exactas (UNLP-CIC-CONICET),

2 Facultad de Ingeniería (UNLP)

Contacto: jlamarra11@gmail.com

Resumen

La obtención de nanopartículas de quitosano (Q) funcionalizadas con compuestos activos antioxidantes como el ácido gálico (AG) constituye una alternativa sustentable para la formulación de nanocompuestos de Q. Por otra parte, el alcohol polivinílico (PVA) es un polímero biodegradable, semicristalino ampliamente utilizado en el desarrollo de materiales. Los objetivos del trabajo fueron: i) formular sistemas bicapa ensamblando PVA y nanocompuestos de quitosano mediante un proceso de termocompresión; ii) estudiar las propiedades fisicoquímicas, estructurales, mecánicas y de barrera al vapor de agua (WVP) de los sistemas desarrollados. La inclusión de una capa de PVA mejoró la WVP de los sistemas. Las propiedades mecánicas de estos materiales exhibieron un aumento de los valores de esfuerzo y una disminución de su elongación. Los cambios experimentados por las bandas asociadas a los modos vibracionales de los polímeros confirmaron las modificaciones corroboradas mediante análisis de componentes principales (PCA). La modificación en la cristalinidad del sistema bicapa asociado al cambio en el calor de cristalización, obtenido por MDSC, corroboró la existencia de interacciones desarrolladas a nivel de la interface entre ambas matrices. Las micrografías obtenidas por SEM confirmaron la formación de las bicapas permitiendo identificar la capa de nanocompuestos a base de Q y la capa de PVA.

Palabras clave: alcohol polivinílico, sistemas bicapa, nanocompuestos de quitosano, termocompresión.

Abstrac

The obtaining of nanoparticles based on chitosan (Q) functionalized with active antioxidant compounds such as gallic acid (AG) constitutes a sustainable alternative for the formulation of Q-nanocomposites. On the other hand, the polyvinyl alcohol (PVA) is a biodegradable and semicrystalline polymer widely used in the development of materials. The aims of the work were: to formulate bilayer systems based on nanocomposite films of chitosan and PVA by means of a thermo-compression process, studying their physicochemical, structural, mechanical, and water barrier properties (WVP). The inclusion of a PVA layer improved the WVP of the systems. The mechanical properties of these materials exhibited an increase in stress values and a decrease in their elongation. The changes experienced by the bands associated with the vibration modes of the polymers confirmed the modifications supported through an analysis of principal components (PCA). The modification in the crystallinity of the bilayer system as a result of the changes in the heat of crystallization, obtained by MDSC, corroborated the existence of interactions at level of the interface between both matrices. The micrographies obtained by SEM confirmed the formation of the bilayers allowing identifying individually the nanocomposite layer based on Q and the PVA layer.

Keyboards: polyvinyl alcohol, bilayer systems, chitosan nanocomposites, thermo-compression.

1. Introducción

El quitosano (Q) es un polisacárido biodegradable conformado por unidades monoméricas de 2-acetoamido-2-deoxi-D-glucopiranososa y de 2-amino-2-deoxi-D-glucopiranososa unidas a través de enlaces β [1-4] (Ahmed e Ikram, 2016). La presencia de grupos amino en su estructura permite la síntesis de nanopartículas a través del método de gelificación ionotrópica (Calvo *et al.*, 1997). La funcionalización de las nanopartículas con compuestos activos antioxidantes como el ácido gálico (AG) (ácido 3,4,5 trihidroxibenzoico) constituye una alternativa sustentable en el desarrollo de nanocompuestos de Q. El AG puede ser extraído de la nuez moscada, hojas de té, corteza de robles entre otras plantas (Alkan *et al.*, 2011).

El alcohol polivinílico (PVA) es un polímero semicristalino, hidrofílico con excelentes propiedades mecánicas (Chen *et al.*, 2008), las cuales se deben mayormente a la presencia de grupos OH en su estructura que permiten establecer interacciones de tipo puente de hidrógeno (Abdelrazek *et al.*, 2010). A pesar de su naturaleza sintética, este polímero presenta una alta tasa de biodegradabilidad (Chiellini *et al.*, 2003).

Las películas compuestas y los recubrimientos pueden ser combinados para utilizar las bondades de cada componente del mismo (Rivero *et al.* 2009). Pereda *et al.* (2011) ensamblaron una matriz de quitosano con gelatina para producir sistemas bicapa mejorando la solubilidad y la permeabilidad al vapor de agua sin alterar las propiedades ópticas de las mismas. Bonilla *et al.* (2014) aprovecharon las interacciones entre el quitosano y el alcohol polivinílico para obtener estructuras compuestas evidenciando cambios estructurales en las matrices desarrolladas.

A pesar de la compatibilidad entre las dos matrices poliméricas (Q y PVA), no existen trabajos sobre sistemas bicapa ensamblando nanocompuestos de quitosano y alcohol polivinílico mediante la técnica de termocompresión. En este contexto, los objetivos del trabajo fueron: formular sistemas bicapa a base de películas nanocompuestas de quitosano y PVA a través de la utilización de un proceso de termocompresión, estudiando sus propiedades fisicoquímicas, estructurales, mecánicas y de barrera al vapor de agua.

2. Materiales y métodos

2.1 Obtención de películas nanocompuestas

El quitosano (Q), proveniente de caparzones de cangrejo, con un grado de desacetilación de 85% y un PM de $4,8 \times 10^4$ Da, fue adquirido a Polymar Ciência e Nutrição (Fortaleza, Brasil). El tripolifosfato sódico (TPP) y el ácido acético fueron suministrados por Anedra (Buenos Aires, Argentina). El ácido gálico (AG) fue proporcionado

por Sigma-Aldrich Chemical Company (St. Louis, MO, USA) y el alcohol polivinílico (ELVANOL T25) con un grado de hidrólisis del 86-89 % por DuPont.

Las nanopartículas fueron obtenidas por el método de gelificación ionotrópica propuesto por Calvo *et al.* (1998). El Q con una concentración de 0,75% (p/v) fue solubilizado en ácido acético al 0,75% (v/v) bajo agitación continua a 20°C. Posteriormente, se incorporaron 50 mg de AG/g de Q a la solución de quitosano formulada. La solución de tripolifosfato sódico (TPP), utilizada como agente entrecruzante fue preparada al 2% (p/v).

El TPP fue adicionado gota a gota, bajo agitación constante, a la solución de Q funcionalizada con AG hasta lograr una relación Q:TPP 5 o 3. La suspensión obtenida fue homogeneizada por 10 min a 13.500 rpm por medio de un Ultraturrax T-25 Janke & Kunkel (IKA-Labortechnik, Alemania).

La nomenclatura utilizada para las suspensiones de nanopartículas de quitosano con relaciones Q:TPP 5 y 3, será N_A y N_B respectivamente.

Simultáneamente, una solución de 1,5 % (p/v) de quitosano fue preparada por solubilización en ácido acético al 1,5% (v/v). Las soluciones filmogénicas nanocompuestas se obtuvieron agregando cantidades equivalentes de solución de quitosano y suspensión de nanopartículas (N_A o N_B). Las películas nanocompuestas se prepararon por moldeo de las soluciones filmogénicas y secado en estufa a 37°C. La nomenclatura de las matrices nanocompuestas será QN_A y QN_B .

2.2 Solución de PVA

El PVA se preparó con una concentración de 10% (p/v) por solubilización en agua a una temperatura de 90°C.

2.3 Ensamblado de sistemas bicapa

Los sistemas bicapa fueron formados mediante un método de compresión descrito por Valencia-Sullca *et al.* (2017) con modificaciones. Películas funcionalizadas de quitosano previamente formadas, conjuntamente con la solución de PVA se colocaron en láminas de teflón y se sometieron a una presión de 4000 Psi y a una temperatura de 77°C durante 10 min. La nomenclatura de las bicapas será QN_A -PVA y QN_B -PVA.

Como control se generaron matrices de PVA al 10% (p/v) que fueron sometidas al mismo proceso de termocompresión (muestra PVA_T). Asimismo, las películas nanocompuestas a base de Q fueron termocomprimidas sin el agregado de PVA (muestras QN_{AT} y QN_{BT}).

2.4 Propiedades físicas de las películas y WVP

La permeabilidad al vapor de agua se determinó según una modificación del método ASTM E96 (Rivero *et al.*, 2009), a través del uso de una celda de permeabilidad de construcción casera la cual fue mantenida a 20°C como fue descrito en trabajos previos (Rivero *et al.*, 2009). Una vez alcanzado el estado estacionario, las celdas fueron pesadas a lo largo de 9 h.

El contenido de humedad de las películas fue cuantificado midiendo la pérdida de peso, mediante secado en estufa a 105°C hasta llegar a peso constante; los resultados fueron expresados en gramos de agua por 100 g de muestra. Las muestras fueron analizadas por triplicado.

La capacidad de hinchamiento de las películas fue determinada por inmersión de piezas previamente pesadas en 100 ml de agua destilada durante 60 min. Posteriormente, las muestras fueron recuperadas y secadas para remover el exceso de agua superficial y pesadas nuevamente. Las muestras fueron analizadas al menos por triplicado.

2.5 Análisis térmico

El análisis térmico de los nanocompuestos de Q y los sistemas bicapa fueron evaluadas utilizando un calorímetro diferencial de barrido modulado (MDSC) modelo Q100 (TA Instruments, New Castle, Delaware, USA), con un accesorio enfriador bajo una atmósfera de N₂ (20 mlmin⁻¹). Los análisis de MDSC se realizaron a 10°C min⁻¹ desde -100 a 250°C. Luego la muestra se enfrió hasta -100°C y se registró una segunda corrida. Las muestras fueron analizadas entre -50°C y 200°C, a una velocidad de calentamiento de 10°C min⁻¹ con un periodo de modulación de 60 s y una amplitud de temperatura de 0,5°C. Una vez completado el primer barrido, la muestra se enfrió hasta -50°C y se registró el segundo barrido. Todos los resultados informados corresponden a la media de dos replicados. Se determinó el flujo de calor total (W g⁻¹) así como las componentes reversible e irreversible. Los datos obtenidos de los termogramas fueron: T_p, temperatura de pico (°C), T_c, temperatura de cristalización (°C), ΔH, entalpía (Jg⁻¹) y T_g, temperatura de transición vítrea (°C) a través del programa Universal Analysis V1.7F (TA Instruments, New Castle, USA).

2.6 FTIR-ATR

El estudio de la contribución de cada componente a las interacciones se llevó a cabo mediante medidas de FTIR-ATR. Los espectros fueron registrados con un equipo Nicolet iS10 Thermo Scientific (Madison, USA) por la acumulación de 32 barridos a 4 cm⁻¹ de resolución en el rango comprendido entre 400-4000 cm⁻¹. Las muestras fueron colocadas sobre un cristal de diamante de ATR (Smart iTX accessory). Los datos fueron analizados usando el

software Omnic 8 (Thermo Scientific, Madison, USA).

2.7 Propiedades mecánicas

El esfuerzo máximo a la tracción (MPa) y la elongación porcentual (%) se determinaron a través del uso de un texturómetro TA.XT2i—Stable Micro Systems (Inglaterra) mediante ensayos realizados con un sistema de pinzas de tensión A/TG según la norma ASTM D882-91 (1996). Para los ensayos se utilizaron películas de 6 cm de longitud y 0,7 cm de ancho. Las curvas de fuerza (N) en función de la deformación (mm) fueron registradas por el software Texture Expert Exceed instalado en una PC conectada al equipo.

Los valores informados corresponden a la media aritmética de al menos 8 determinaciones individuales.

2.8 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La evaluación de la morfología de las películas fue realizada a través de un microscopio electrónico de barrido FEI modelo Quanta 200 (The Netherlands). Previo al análisis de las muestras sometidas a bajo vacío, las mismas fueron criogénicamente congeladas en nitrógeno líquido, fracturadas y montadas en tacos de bronce a través de una cinta doble faz de carbón.

2.9 Análisis estadístico

Para realizar el análisis estadístico se utilizó el programa Systat versión 10.0 (SYSTAT, Inc., Evanston, IL, USA). Se utilizaron análisis de varianza (ANOVA), regresiones lineales y test LSD de Fisher. El nivel de significancia usado fue de 0,05.

Para evaluar las diferencias entre las muestras conteniendo diferentes proporciones de nanopartículas se realizó un análisis de componentes principales (PCA) mediante el uso del programa The Unscrambler® (version 8, CAMO, Noruega)

3. Resultados y discusión

3.1 Propiedades físicas

De acuerdo a los datos obtenidos para las películas nanocompuestas no se observaron diferencias significativas (p>0,05) en los valores de WVP (Tabla 1). Sin embargo este parámetro sufrió una reducción significativa con la formación de los sistemas bicapa. Este hecho también fue observado por Rivero *et al.* (2009) para bicapas de quitosano y gelatina indicando que la disminución de la WVP es un indicio de interacciones existentes entre las películas que conforman el sistema. Asimismo, Pereda *et al.* (2011) informaron la reducción en la

permeabilidad al vapor de agua de bicapas formadas por quitosano y gelatina indicando que la capa menos permeable controla el fenómeno de difusión. En el presente trabajo, la permeabilidad de los sistemas bicapa se asemejó al valor obtenido para películas de PVA (Villaruel *et al.*, 2015), las cuales presentaron el valor de permeabilidad más bajo del sistema debido a su mayor cristalinidad en relación a los nanocompuestos (Lamarra *et al.*, 2016).

Este efecto de disminución en WVP podría atribuirse también a la generación de interacciones a nivel de la interface, que restringen la transferencia de masa en la bicapa con gran resistencia al pasaje de gases (Valencia-Sullca *et al.*, 2017).

Como puede observarse en la Tabla 1, los sistemas bicapa exhibieron bajos valores de humedad debido a la presencia de la capa de PVA. En este sentido Villaruel *et al.* (2015) informaron una disminución en el contenido de humedad por la inclusión de PVA en películas compuestas a base de carboximetilcelulosa

El hinchamiento de los sistemas QN_A-PVA y QN_B-PVA experimentó un descenso con respecto a las películas nanocompuestas indicando que las interacciones establecidas entre las películas que conforman el sistema permiten generar matrices con baja susceptibilidad a la incorporación de moléculas de agua.

Tabla 1: Propiedades físicas del nanocompuestos de Q y los sistemas bicapa

Muestra	Humedad (%)	Hinchamiento (%)	WVP x10 ¹¹ (g/Pa.m.s)
QN _A	28,1 ^{a,*} ±0,4	278 ^a ±105	11,0 ^a ±0,2
QN _B	27,7 ^a ±2,3	399 ^a ±123	8,4 ^a ±0,02
QN _A -PVA	19,4 ^b ±0,6	17,4 ^b ±4,7	1,5 ^b ±0,03
QN _B -PVA	19,2 ^b ±0,8	12,2 ^b ±4,4	0,81 ^b ±0,004

*Diferentes subíndices en una misma columna indican diferencias significativas entre las muestras (p<0,05)

3.2 FTIR- ATR

En la Figura 1 se presentan los espectros FTIR-ATR de las películas individuales y las bicapas.

Como es bien conocido, el PVA presenta una banda en la región 3500 y 3000 cm⁻¹ característica del estiramiento de los grupos OH del polímero (Villaruel *et al.*, 2015, Bonilla *et al.*, 2014, Naduparambath 2017). Las bandas de absorción a 2942 y 2900 cm⁻¹ se asignan a las vibraciones de tensión C-H de la cadena alifática (Bonilla *et al.*, 2014) mientras que el pico agudo a 1750 cm⁻¹

corresponde al estiramiento del C=O del grupo acetato (Zhang *et al.*, 2013).

El quitosano presentó las bandas características localizadas a 1637 cm⁻¹ (estiramiento del grupo C=O, en la amida, vibración amida I), 1538 cm⁻¹ (bending del grupo -NH₂ en la amida no acetilada 2-amino glucopiranos, vibración amida II) y 1377 cm⁻¹ (estiramiento del grupo C-O pertenecientes a los alcoholes primarios). Los picos de absorción a 1150 cm⁻¹ (estiramiento antisimétrico de las uniones glucosídicas C-O-C entre las unidades monoméricas) y a 1018 cm⁻¹ (vibraciones del esqueleto carbonado que implican el estiramiento C-O) son característicos de la estructura de los sacáridos que forman parte del quitosano (Lamarra *et al.*, 2016) (Figura 1a).

El espectro resultante de los sistemas bicapa mostró un corrimiento de la banda localizada a 3400 cm⁻¹ hacia menores números de onda, lo cual podría atribuirse a interacciones existentes entre los grupos -OH del PVA y los grupos amino del Q (Bonilla *et al.*, 2014).

Asimismo se observó una disminución de la intensidad de la señal de esta banda y de los picos ubicados a 1653 cm⁻¹ y a 1562 cm⁻¹, atribuidas al estiramiento C=C del PVA (Figura 1b).

Analizando la capa correspondiente al nanocompuesto de Q se observó una modificación en las bandas asociadas a la amida I y II, reafirmando/corroblando la existencia de interacciones entre los grupos amino del quitosano y los -OH del PVA.

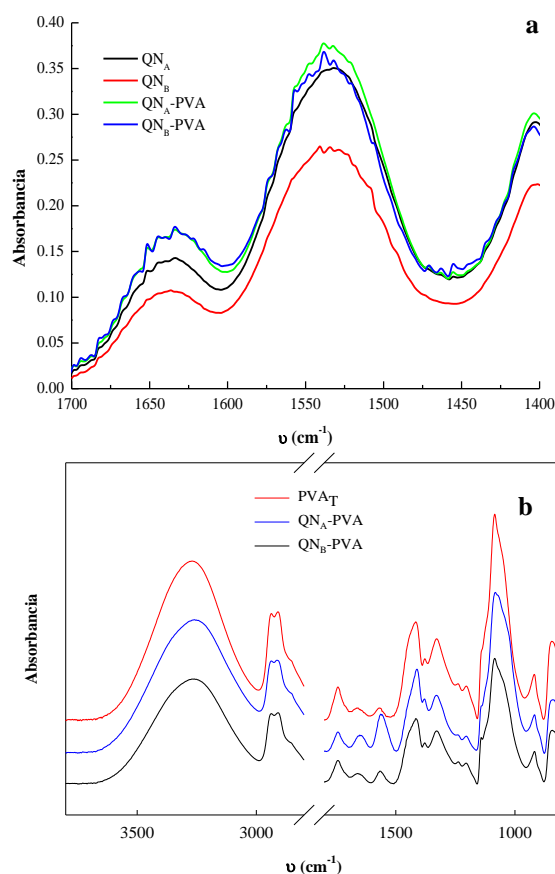


Figura 1. Espectro FTIR-ATR de: (a) nanocompuestos y sistemas bicapa, región espectral 1400- 1700 cm⁻¹; (b) control de PVA y bicapas, región 3600-800 cm⁻¹.

Con el objetivo de establecer diferencias entre las muestras, se introdujeron en el análisis los espectros de los nanocompuestos sometidos al proceso de termocompresión sin la presencia de una capa de PVA.

El análisis de PCA de todas las muestras permitió inferir que la varianza fue explicada mayormente por 2 PCs para todas las regiones estudiadas. En el caso del análisis de la región comprendida entre 1400 y 1700 cm^{-1} , se produjo la separación en distintos *clusters*, indicando la existencia de diferencias significativas entre las muestras en la región de estudio (Figura 2). Como puede verse en la Figura 2 la muestra sometida a calentamiento también evidenció diferencias con respecto a la película nanocompuesta sin tratamiento, tal como fue explicado por Ritthidej *et al.* (2002) quienes afirmaron que al aumentar la temperatura de curado se generan enlaces amida. Martínez Urreaga y de la Orden (2006) encontraron que el calentamiento puede provocar la desaparición de los grupos amino modificando la señal de FTIR característica de estos grupos.

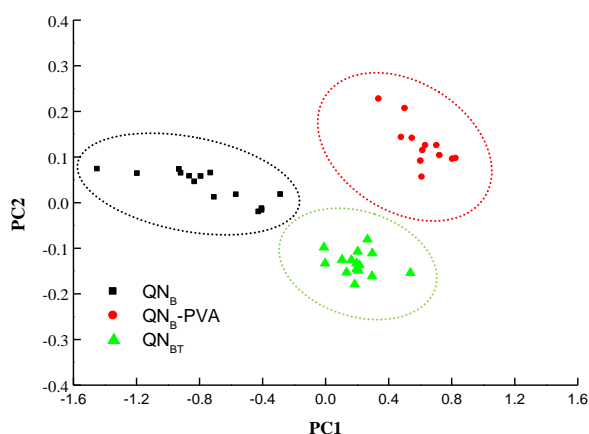


Figura 2. Grafico biplot de las muestras QNB, QNB-PVA y QNB-T. Región espectral 1400-1700 cm^{-1}

El gráfico biplot de PCA de las muestras analizadas sobre la cara de deposición del PVA correspondiente a la región espectral ubicada entre 1400 y 1700 cm^{-1} (Figura 3a) mostró la separación de los sistemas bicapa con respecto al control de PVA (PVA_T), confirmando la reducción en la intensidad del pico perteneciente al enlace C=C.

Entre los sistemas bicapa QN_A -PVA y QN_B -PVA no se observaron diferencias significativas. Asimismo se analizó la región de la banda perteneciente a los grupos -OH del PVA (Figura 3b) evidenciando nuevamente una separación entre las distintas muestras lo que indicaría la interacción antes mencionada entre los grupos amino del Q y los -OH del PVA.

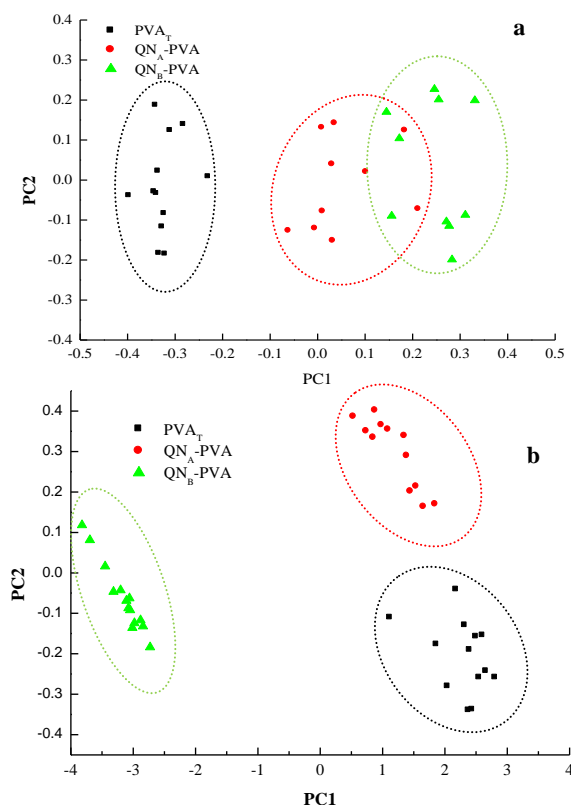


Figura 3. Grafico biplot de sistemas bicapa y de PVA_T , región espectral: a) 1400- 1800 cm^{-1} y b) 3000- 3500 cm^{-1} .

3.3 Análisis térmico

A través de las curvas obtenidas mediante MDSC se analizó la temperatura del pico de cristalización del PVA (Figura 4), observándose un corrimiento a valores más bajos y una disminución en el valor de entalpía asociada cuando el sistema bicapa se sometió al proceso de termocompresión. Esta disminución fue atribuida por Kumar *et al.* (2010) a una buena compatibilidad entre ambos polímeros. Según Villaruel *et al.* (2015) un cambio en la estructura cristalina puede deberse a interacciones polímero-polímero en la fase amorfa, creando así un desorden de los cristales con la consecuente disminución en la entalpía de cambio de fase.

Otra manera de poner en evidencia la miscibilidad de materiales de tipo polimérico es a través de la variación de la temperatura de transición vítrea (T_g). Como puede observarse en la Figura 5, el PVA exhibió una T_g alrededor de 79°C, valor similar a lo informado por Naduparambath *et al.* (2017). Estos autores afirman que la T_g de este material puede variar entre 58 y 85°C dependiendo de diversos factores tales como grado de hidrólisis, grado de polimerización, entre otros.

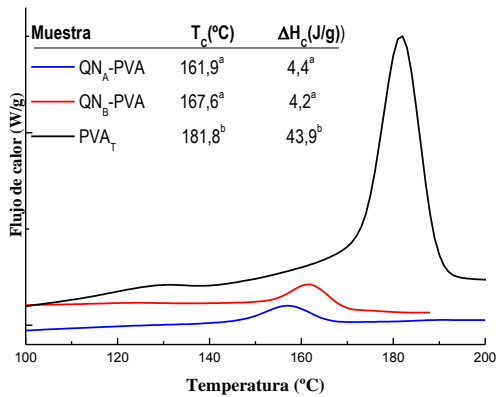


Figura 4: Termogramas de los sistemas bicapa y de la película de PVA_T en la región de la cristalización del PVA.

Las películas nanocompuestas presentaron dos transiciones asociadas a las T_g s alrededor de 45 y de 90°C.

Los sistemas bicapa exhibieron tres valores de T_g , lo que indicaría la preservación de la identidad microestructural de cada uno de los componentes ensamblados. Sin embargo, se observaron modificaciones en los valores de la T_g asociada al PVA debido a la existencia de interacciones entre ambos polímeros (Figura 5).

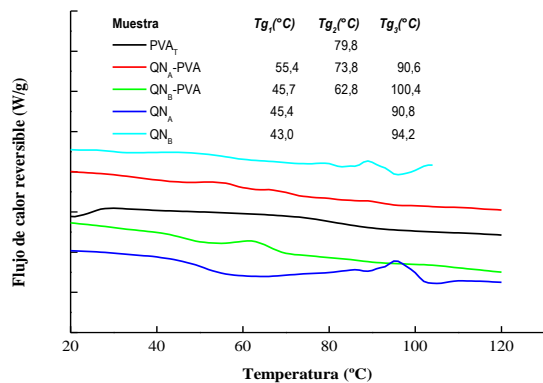


Figura 5. Termogramas de las muestras analizadas obtenidos por MDSC.

Resultados similares fueron encontrados por Kubo *et al.* (2003), observando la aparición de dos valores de T_g en matrices de PVA compatibilizadas con lignina.

3.4 Propiedades mecánicas

Se observó que la formación de los sistemas bicapa generó matrices que mostraron valores de esfuerzo mayores con respecto a las películas nanocompuestas (Figura 6a). Esto podría deberse a

la interacción existente entre los grupos amino y OH disponibles del Q, y los grupos -OH del PVA, resultados previamente corroborados por FTIR, (Bonilla *et al.*, 2014, Bahrami *et al.*, 2003; Rivero *et al.*, 2009).

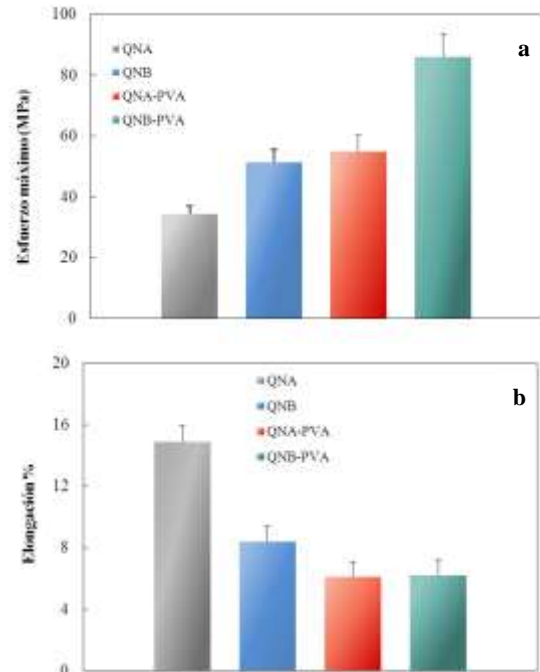


Figura 6. Propiedades mecánicas de películas nanocompuestas y de sistemas bicapa; a) esfuerzo a la ruptura, b) elongación porcentual.

Khan *et al.* (2016) explicaron la existencia de este tipo de interacciones en bicapas de gelatina y PVA, remarcando que la interacción entre los grupos amino y los grupos -OH del PVA se debe a que el H de este último actúa como aceptor de electrones, en tanto que los grupos amino actúan como donadores induciendo una interacción de tipo dipolo-dipolo, aumentando así la interacción molecular.

Los valores de elongación de los sistemas bicapa fueron más bajos que los obtenidos para los nanocompuestos (Figura 6b). Similares resultados fueron encontrados por Valencia-Sullca *et al.* (2017) para bicapas de almidón termoplástico y quitosano obtenidas por termocompresión. Los autores atribuyeron la menor elongación a las interacciones establecidas en la interface entre los polímeros.

Análisis microestructural

En las micrografías obtenidas mediante SEM se evidenció la formación de bicapas pudiéndose discernir dos regiones definidas, una más compacta característica de las películas nanocompuestas de quitosano (Lamarra *et al.*, 2016) y otra correspondiente a la capa de PVA.

Por otro lado es destacable la existencia física de las dos regiones de los sistemas bicapa, confirmando

las interacciones previamente demostradas mediante otras técnicas. Este hecho es similar a lo encontrado por Pereda *et al.* (2011) y por Ferreira *et al.* (2016).

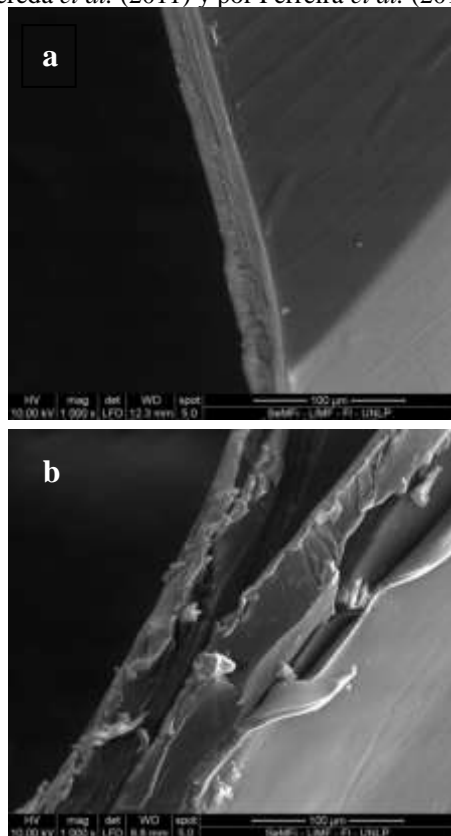


Figura 7: Micrografías obtenidas por SEM de las bicapas a) QN_A-PVA y b) QN_B-PVA

4. Conclusiones

Los sistemas bicapa formados mostraron mejoras en las propiedades de barrera al vapor de agua debido a la presencia de la capa de PVA. Las propiedades mecánicas de estos materiales sufrieron modificaciones traduciéndose en un aumento de los valores de esfuerzo y en una disminución de su elongación. Los cambios experimentados por las bandas asociadas a los modos vibracionales de los polímeros confirmaron estas modificaciones las cuales también se corroboraron a través del análisis de componentes principales. La modificación en la cristalinidad de la matriz del sistema bicapa como resultado del cambio en el calor de cristalización se confirmó mediante MDSC, corroborando la existencia de interacciones establecidas a nivel de la interface entre ambas matrices. Las micrografías obtenidas por SEM ratificaron la formación de las bicapas permitiendo discernir entre las capas funcionalizadas de Q y las de PVA.

5. Referencias

Alkan, D.; Aydemir, L.Y.; Arcan, I., Yavuzdurmaz, H.; Atabay, H.I.; Ceylan, C., Yemencioğlu, A. (2011). *Development of flexible antimicrobial packaging materials against Campylobacter jejuni by incorporation of gallic acid into zein-based films*, Journal of Agricultural and Food Chemistry 59(20), 11003-11010.

Abdelrazek, E.M.; Elashmawi, I.S.; Labeeb, S. (2010). *Chitosan filler effects on the experimental characterization, spectroscopic investigation and thermal studies of PVA/PVP blend films*, Physica B, 405, 2021-2027.

Ahmed S., Ikram S. (2016). *Chitosan based scaffolds and their applications in wound healing*. Achievements in the Life Sciences 10 27–37.

Bonilla, J.; Fortunatti, E.; Atarés, L.; Chiralt, A.; Kenny, J.M. (2014). *Physical, structural and antimicrobial properties of poly vinyl alcohol-chitosan biodegradable films*, Food Hydrocolloids 35, 463-470.

Calvo, P.; Remunan-Lopez, C.; Vila-Jato, J.L.; Alonso, M.J. (1997). *Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers*, Journal of Applied Polymer Science 63(1), 125-132.

Chen, C. H.; Wang, F. Y.; Mao, C. F.; Liao, W. T.; Hsieh, C. D. (2008). *Studies of chitosan: II. Preparation and characterization of chitosan/poly(vinyl alcohol)/gelatin ternary blend films*, International Journal of Biological Macromolecules 43, 37-42.

Chiellini E.; Corti A.; D'antone S.; Solaro R. (2003). *Biodegradation of poly (vinyl alcohol) based materials*, Progress in Polymer Science 28 963–1014.

Ferreira A.R.V., Torres C.A.V., Freitas F., Sevrin C., Grandfils C., Reis M.A.M., Alves V.D., Coelho I.M. (2016). *Development and characterization of bilayer films of FucoPol and chitosan*. Carbohydrate Polymers 147 8–15.

Lamarra, J.; Gianuzzi, L.; Rivero, S.; Pinotti, A. (2017) *Assembly of chitosan support matrix with gallic acid-functionalized nanoparticles*, Materials Science and Engineering C 79, 848–859.

Khan, M.I.H.; Islam, J.M.M.; Kabir, W.; Rahman, H.; Mizan, M.; Rahman, M.F.; Amin, J.; Khan, M. A. (2016). *Development of hydrocolloid bi-layer dressing with bio-adhesive and non-adhesive properties*, Materials Science and Engineering C 69, 609–615.

Kubo S. y Kadla J.F. (2003). *The Formation of Strong Intermolecular Interactions in Immiscible Blends of Poly(vinyl alcohol) (PVA) and Lignin*. *Biomacromolecules*, 4, 561-567

Kumar, H.M P. ; Prabhakar, M.N.; Prasad, C.V.; Rao, K.M., Reddy, T V.A.; Rao, K. C.; et al. (2010). *Compatibility studies of chitosan/PVA blend in 2% aqueous acetic acid solution at 30°C*, *Carbohydrate Polymers* 82, 251-255.

Martinez Urreaga, J.; de la Orden, M.U. (2006). *Modification of cellulose with aminocompounds: A fluorescence study*, *Carbohydrate Polymers*, 69, 14-19.

Naduparambath, S.; Sreejith, M.P.; Jinita, T.V.; Shaniba, V.; Aparna, K.B.; Purushothaman, E. (2017). *Development of green composites of poly(vinyl alcohol) reinforced with microcrystalline cellulose derived from sago seed shells*, *Polymer Composites*, 2-7.

Pereda, M.; Ponce, A.G.; Marcovic, N.E., Ruseckaite, R.A.; Martucci, J.F. (2011). *Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity*. *Food Hydrocolloids* 25, 1372-1381.

Ritthidej, G.C.; Phaechamud, T.; Koizumi, T. (2002). *Moist heat treatment on physicochemical change of chitosan salt films*, *International Journal of Pharmaceutics*, 232, 11-22.

Villarruel S.; Giannuzzi L.; Rivero S.; Pinotti A. (2015). *Changes induced by UV radiation in the presence of sodium benzoate in films formulated with polyvinyl alcohol and carboxymethyl cellulose*, *Materials Science and Engineering C* 56, 545–554.

Valencia-Sullca, C.; Vargas, M.; Atarés, L.; Chiralt, A. (2018). *Thermoplastic cassava starch-chitosan bilayer films containing essential oils*, *Food Hydrocolloids* 75 107-115.

Zhang, L.; Zhang, E.; Lu, J.; Liang, H. (2013). *Preparation and characterization of carboxymethyl cellulose/polyvinyl alcohol blend film as a potential coating material*, *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, 52, 163–167.

25TCA. Antioxidantes Naturales: encapsulación y estabilidad térmica de los extractos etanólicos de *Vaccinium myrtillus* (arándano) y *Schinus molle* L. (Aguaribay)

Natural antioxidants: encapsulation and thermal stability of *Vaccinium myrtillus* (blueberry) and *Schinus molle* L. (Aguaribay) ethanolic extracts

Ayelen M. Sosa^{(2)*}, Nicolás Giordano Maffioly^{(1)*}, Jorge Montanari⁽¹⁾, María Lucía Pollio⁽²⁾,
Emilse V. Padin⁽²⁾ y Silvia del V. Alonso⁽¹⁾

⁽¹⁾ Laboratorio de Biomembranas (LBM), Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes. Grupo vinculado de Biología Estructural y Biotecnología, IMBICE-CONICET-CICPBA.

⁽²⁾ Laboratorio de Nanotecnología de los Alimentos (NANOTEAL), Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes.

*Correo electrónico: nicolasgiordanom@gmail.com, ayelen.sosa9@gmail.com, salonso@unq.edu.ar

Resumen

El uso de antioxidantes naturales se incrementó en la industria de los alimentos. Las propiedades de los extractos se pueden ver afectadas por las condiciones de almacenamiento y producción de estos. El objetivo de este trabajo fue obtener micropartículas lipídicas sólidas (SLM) para ser utilizadas como transportadores de antioxidantes y estudiar si es afectada la capacidad antioxidante, de los extractos, cuando son sometidos a diferentes temperaturas. Las SLM se obtuvieron por medio de una emulsión lipídica. La estabilidad en el tiempo se determinó mediante analizador de partículas láser dando un tamaño promedio constante de 15,13 μm (extracto de Aguaribay) y de 13,18 μm (extracto de arándano) durante 48 días de almacenamiento a 4°C. La morfología se determinó mediante microscopía óptica. Se observó que ambas formulaciones conservaron la homogeneidad de la población durante el almacenamiento.

La estabilidad térmica de los extractos se determinó según el método de captura de radicales libres utilizando 2,2-Difenil-1-picrilhidracilo (DPPH). El extracto de Aguaribay presentó mayor actividad antioxidante en comparación al butil hidroxitolueno (BHT), mientras que, el extracto de arándanos posee iguales valores que el BHT pero a mayor concentración. En las temperaturas ensayadas los extractos no presentaron una variación en su capacidad antioxidante.

Podemos concluir que las SLM propuestas con ambos extractos podrían ser utilizadas como transportadoras de antioxidantes naturales.

Palabras claves: micropartículas lipídicas sólidas, extracto etanólico, antioxidantes naturales.

Abstract

Nowadays, the use of natural antioxidants has increased in the food industry nowadays. The properties of the extracts can be affected by their storage and production conditions. The objective of this work was to obtain solid lipid microparticles (SLM) to be used as antioxidant transporters and to study if the antioxidant capacity of the extracts is affected when subjected to different temperatures.

The SLM were obtained by means of a lipid emulsion protocol. The time-stability was determined by laser particle analyzer giving a constant average size of 15.13 μm (Aguaribay extract) and 13.18 μm (blueberry extract) during 48 days of storage at 4°C.

The morphology was determined by optical microscopy and both formulations maintained the homogeneity of the population during storage.

The thermal stability of the extracts was determined according to the method of free radicals capture using 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). The Aguaribay extract showed greater antioxidant activity compared to butylated hydroxytoluene (BHT) and the blueberry extract had the same values as BHT but at a higher concentration. At the temperatures tested, the extracts did not show any variation in their antioxidant capacity.

We can conclude that the SLM of both extracts could be used as transporters of natural antioxidants.

Keywords: solid lipid microparticles, ethanolic extract, natural antioxidants.

1. Introducción

En las últimas décadas se incrementó en la industria de los alimentos el uso de oleorresinas,

extractos y aceites esenciales de especias, hierbas, frutas, entre otros, como antimicrobianos y antioxidantes de origen

natural. Este incremento se debió a que los consumidores buscan productos de alta calidad pero que sean saludables y libres de preservadores químicos, los cuales han demostrado ser perjudiciales para la salud (Sachetti, 2005 y Padin, 2009).

Los extractos son obtenidos por procesos de extracción sólido-líquido, en los cuales son utilizados diferentes solventes orgánicos como ser etanol, metanol o hexano. En este proceso son extraídos todos los constituyentes aromáticos, saborizantes y colorantes. Posterior al proceso de extracción el solvente utilizado es eliminado quedando así el extracto u oleorresina (Daghero, 2000, Borges, 2004 y Cardona, 2006).

El Aguaribay (*Schinus molle* Linn) es un árbol americano de la familia de la Anacardiáceas. Su fruto (bayas) son de color rosado con leve sabor picante semejante al de la pimienta por lo que se la conoce como “pimienta rosa” (Barboza, 2006). El extracto etanólico de las bayas del Aguaribay, posee capacidad antioxidante y antimicrobiana (Padin, 2007).

El arándano (*Vaccinium myrtillus*) es una planta de la familia de las Ericáceas que da unas pequeñas bayas comestibles de color negro azulado de sabor agradable y agridulce. El valor agregado relacionado con los resultados de la ingestión de arándanos es debido a su alto contenido de antocianinas las cuales poseen propiedades antioxidante, antiinflamatorio, antitumoral y son cardioprotectoras (Montanari, 2013).

El uso de alimentos o productos comestibles para la promoción de la salud es un estudio emergente que se conoce como nutraceutica. La Fundación para la Innovación en Medicina (FIS) (USA, 1989) define a los nutraceuticos como “cualquier sustancia que es comestible o es parte de algún comestible y que provee beneficios médicos o para la salud”, entre los cuales se cuenta el aumento de la capacidad antioxidante (Alanazi 2013).

La lecitina de soja o SPC es un compuesto de especial importancia nutricional que protege contra la oxidación de los compuestos adicionados en las suspensiones (Pan et al. 2013). Además, la manteca de cacao o CB es el componente principal del chocolate blanco y posee cualidades deseables como estabilidad y un punto de fusión justo por debajo de la temperatura del cuerpo humano promedio, que es lo que hace que el chocolate se mantenga sólido a temperatura ambiente pero se funde en la boca, presentando además propiedades antioxidantes naturales (Byung-Do et al., 2005). Las SLM combinan dos características favorables para la adición en alimentos: son transportadores coloidales de tamaño

micrométrico compuestos por lípidos sólidos a temperatura ambiente. Estos transportadores suelen estar compuestos por sustancia inertes, generalmente reconocidas como seguras (GRAS), por lo que tienen muy baja o nula toxicidad en humanos (Müller et al. 2002; Silva et al. 2012).

Las propiedades de los extractos se pueden ver afectadas por las condiciones de almacenamiento y producción de estos, lo que nos llevó a proponer un sistema de protección lipídica para estos. El objetivo de este trabajo fue obtener micropartículas lipídicas sólidas (SLM) encapsulando los extractos de Aguaribay y arándano para ser utilizadas como transportadores de antioxidantes de origen natural y además, estudiar si la capacidad antioxidante de estos extractos es afectada al exponerse a diferentes temperaturas.

2. Materiales y métodos

2.1 Materiales

La lecitina de soja (SPC) utilizada fue de grado “apto para consumo humano”; la manteca de cacao (CB) se obtuvo de Parafarm (Argentina); el Tween 20, de Promega (USA). Extracto etanólico de Aguaribay (*Schinus molle* L.) y de arándano (*Vaccinium myrtillus*).

2.2 Obtención de los extractos

Los extractos se obtuvieron por medio de una extracción sólido-líquido utilizando como solvente etanol. Se colocan 10 gramos de muestra molida en un erlenmeyer de 250 ml. Se agregan 100 ml de etanol y se agitan, durante 48 horas a velocidad constante de 40 ciclos por minuto y a una temperatura de 40 °C. El material insoluble se filtra con papel de filtro, Whatman N° 4 y el solvente es evaporado a presión reducida a 40 °C hasta sequedad utilizando un rotavapor (Heidolph Laborata 4000). Los extractos son almacenados a temperatura ambiente hasta el momento de ser utilizados (Padin, 2007).

2.3 Preparación de las SLM

2.3.1 Determinación de la formulación de SLM

Las SLM se obtuvieron por medio de una emulsión lipídica mediante agitación a 65°C y 15000 rpm durante 10 minutos, usando un Ultra-Turrax T25 (Janhke & Kunkel GmbH and Co KG, Staufen, Alemania). La fase lipídica se obtuvo fundiendo lecitina de soja y manteca de

cacao en diferentes proporciones, además se utilizaron diferentes volúmenes de Tween 20 como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1: Formulaciones de SLM

Formulación	1	2	3	4	5
Tween 20 (µl)	100	200	100	100	200
Manteca de cacao (g)	1,89 5	1,895	0,47 5	0,94 7	0,94 7
Lecitina de Soja (g)	1,89 5	1,895	3,31 5	2,84 2	2,84 2

2.4 Caracterización de las SLM

Las diferentes formulaciones de SLM se caracterizaron tanto en tamaño como en morfología para determinar cuál de ellas es la más estable.

Caracterización del tamaño: La estabilidad en tamaño se determinó mediante un analizador de partículas por técnica de Light-Scattering (Malvern MasterSizer 2000E, Malvern Ltd, UK). Se configuró el equipo para realizar 5 medidas de 30 segundos a 2000 RPM y grado de obscuración entre 11-14% con intensidad de láser entre 68 y 75% para cada muestreo. Para analizar los datos se utilizaron los siguientes parámetros: Brouker mean diameter o D(4,3), promedio del diámetro del 90% o D(0,9)

Caracterización de la morfología: La morfología se evaluó mediante microscopía óptica (Olympus Q color U-CMAD3).

2.5. Encapsulación de los extractos etanólicos

Las SLM, conteniendo los extractos, se obtuvieron por medio de una emulsión lipídica en las mismas condiciones que se prepararon las SLM anteriormente mencionadas.

La fase lipídica se obtuvo mezclando en partes iguales lecitina de soja y manteca de cacao (1,895 g); se utilizó 100 µl de Tween 20 como surfactante, incorporándose 40 mg de oleoresina o 320 mg de extracto de arándanos. Se caracterizó la estabilidad de las micropartículas tanto en tamaño como en morfología durante 60 días de almacenamiento a 4 °C.

2.6 Estudio de la estabilidad térmica de los extractos etanólicos

La estabilidad térmica de los diferentes extractos cuando son sometidos a las siguientes

temperaturas 25 °C, 65 °C y 85 °C durante 15 minutos y se determinó, según el método de captura de radicales libres, utilizando el reactivo DPPH (2,2-difenil-2-picrilhidrazil) y como antioxidante sintético BHT (Butil hidroxitolueno).

2.6.1 Determinación de la capacidad antioxidante. Test de DPPH

Uno de los métodos para determinar la capacidad antioxidante utiliza sustancias cromógenas de naturaleza radical. El compuesto cromógeno más utilizado es el DPPH (Kuskoski, 2005).

En este trabajo se usó el test de DPPH utilizando como control positivo BHT (Hosni, 2011). La técnica consiste en agregar 3 ml de una solución 0,003% de DPPH en metanol, recién preparada a alícuotas de 50 µl de las muestras. Después de un período de incubación de 30 min a temperatura ambiente se mide la absorbancia a 517 nm. La disminución de la absorbancia de la solución de DPPH indica un aumento en la actividad por eliminación del radical DPPH. Esta actividad se da como porcentaje de eliminación de radicales DPPH, que se calcula con la ecuación (1):

$$I\% = (A \text{ Blanco} - A \text{ Muestra}) \times 100 / A \text{ Blanco} \quad (1)$$

Dónde: I es el Porcentaje de inhibición y A es la absorbancia del blanco y de la muestra.

3. Resultados y Discusión

3.1 Caracterización de las SLM

La formulación 1, de la tabla 1 se seleccionó como la formulación más estable en función de la conservación de su tamaño y la homogeneidad de la población tanto para el extracto de Aguaribay como de arándano. La formulación 2 no mostró diferencias significativas con la adición de dos veces la cantidad de tensioactivo con respecto a la formulación 1. Las formulaciones 3; 4 y 5 de SLM no mostraron una población homogénea en términos de tamaño cuando se varía la composición de la fase lipídica, además de que no mantienen su tamaño a lo largo del tiempo.

En la figura 1, correspondiente a la formulación 1, podemos observar que las SLM se mantienen homogéneas, con respecto al tamaño, mientras que la figura 2, por ejemplo de la formulación 3,

no muestra homogeneidad cuando es analizado el tamaño de las micropartículas.

Figura 1: Tamaño de SLM, formulación 1

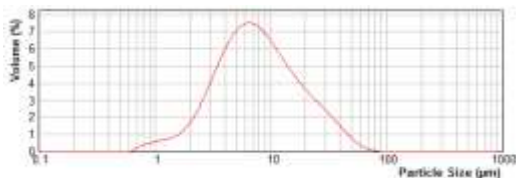
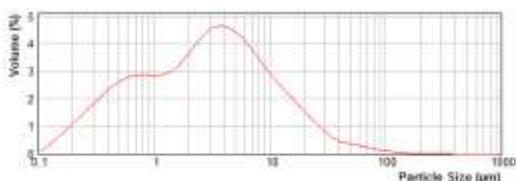
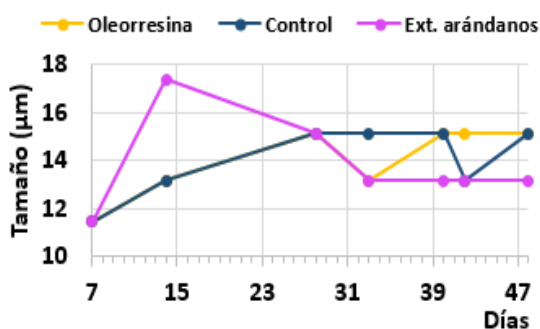


Figura 2: Tamaño de SLM, formulación 3



Las micropartículas, conteniendo los extractos, presentaron un tamaño promedio constante de 15,13 µm (oleorresina) y de 13,18 µm (extracto de arándano) durante, aproximadamente, 48 días de almacenamiento a 4 °C. En la figura 3 se muestra como el tamaño de las SLM, de Aguaribay y arándano con respecto al control sin extracto, se mantienen estables en el tiempo.

Figura 3: Estabilidad de SLM conteniendo los extractos en el tiempo conteniendo y a 4°C de refrigeración



En cuanto al estudio de la morfología se pudo determinar que las micropartículas presenta una población homogénea durante el tiempo de almacenamiento.

En la imagen 1 y 2 podemos observar como es la morfología de las SLM de Aguaribay y arándanos, respectivamente, a tiempo 0.

Imagen 1: SLM de Aguaribay



Imagen 2: SLM de arándano



3.2 Estudio de la estabilidad térmica de los extractos etanólicos

En la tabla 2 se muestran los resultados obtenidos, como porcentaje de inhibición del radical libre DPPH, medida que aumenta de acuerdo a la temperatura de calentamiento de los extractos.

Tabla 2: Porcentaje de inhibición del radical libre DPPH (%I)

Muestra	Concentración µg/ml	%I 25 °C	%I 65 °C	%I 85 °C
BHT	800	19,8	23,0	21,7
	400	16,1	15,49	13,5
Ext. Aguariba y	200	77,9	78,8	78,4
	100	44,7	48,1	51,9
Ext. Arándano	12800	29,9	30,1	29,7
	6400	8,95	10,9	12,5

El calentamiento de los extractos no produce cambios significativos en la capacidad antioxidante de estos. El extracto de Aguaribay posee la mayor capacidad antioxidante, superando notablemente al BHT, el extracto de arándano, si bien las concentraciones son muy superiores al BHT iguala a este en el porcentaje de inhibición.

4. Conclusiones

Podemos concluir que las SLM de ambos extractos podrían ser utilizadas como transportadores de antioxidantes naturales aportando además ácidos grasos esenciales Ω3 y Ω6 de la lecitina, importantes para la salud.

A su vez al no poseer cambios significativos en su capacidad antioxidante a medida que se los calienta podrían ser utilizados en alimentos donde deben ser cocinados y/o calentados antes de poder ser consumidos.

El uso de extractos naturales de cultivos regionales permitiría reemplazar antioxidantes sintéticos, como ser el BHT, conformando un nuevo aditivo con características nutraceuticas.

5. Referencias

Alanazi, A. S. (2013). *The role of nutraceuticals in the management of autism*. Saudi Pharmaceutical Journal 21(3): 233-243.

Borges P.; Fernández N. y Roncal, E. (2004). *Obtención y caracterización de oleorresinas de especias*. Alimentaria, 97-99.

Byung-Do, K.; Kun, N.; Hoo-Kyun, C. (2005). *Preparation and characterization of solid lipid nanoparticles (SLN) made of cacao butter and curdlan*. European J. Pharm. Sciences 24, 199-205.

Cardona J.; Lopera, G., Montoya R. A., Montoya V. A., Peña, J., Gil, M.; Benavides, J., Caicedo, M., Ríos, L. y Restrepo, G. (2006). *Extraction of oleoresin from sweetpepper (Caspiscum annum L.)*. VITAE. Revista de la facultad de Química farmacéutica. Universidad Nacional de Medellín, Colombia, vol. 13,1,5-6.

Daghero J. y Matte M. (2000). *Obtención de la oleorresina de ajo (Allium Sativum) por extracción con etanol*. Anales de SAIPA- IX Congreso nacional de Recursos naturales Aromáticos y Medicinales. Volumen XVI, 105-108.

Hosni K., Jemli M., Dzri S., M'Rabet Y., Ennigrou A., Sghaier A., Casabianca H., Vulliet E., Brahim n. y Sebei H. (2011). *Changes in phytochemical, antimicrobial and free radical scavenging activities of the Peruvian pepper tree (Schinus molle L.) as influenced by fruit maturation*. Industrial Crops and Products, 34, 1622-1628.

Kuskoski E., Asuero A., Troncoso A., Mancini-Filho J. y Fett R. (2005). *Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos*. Cienc. Tecnol. Aliment. Campinas, 25 (4),726-732.

Montanari J., Vera M., Mensi E., Morilla M. y Romero E. (2013). *Nanoberries for topical delivery of antioxidants*. J. Cosmt. Sci. 64, 469-481.

Muller, R. H., et al (2002) Adv Drug Deliv Rev, 54 Suppl 1, S131-55 530

Pan, Y., R. V. Tikekar, et al. (2013). *Effect of antioxidant properties of lecithin emulsifier on oxidative stability of encapsulated bioactive compounds*. International Journal of Pharmaceutics 450(1-2): 129-137.

Padin E. V. y Pollio M. L. (2007) *Antibacterial activity of oleoresin from Aguaribay (Schinus molle L.)*. Journal of Food Technology, 5 (1), 5-8.

Padin E. y Pollio M. L. (2009). *Aceites esenciales y oleorresinas- Nueva generación de aditivos naturales*. Ingeniería Alimentaria, 79, 54-56.

Sachetti G., Maietti, S., Muxxoli, M., Scagliati M., Manfredini, S., Radice, M. y Bruni, R.. (2005). *Comparative evaluation of 11 essential oils different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in food*. Food Chemistry, 91,621-632

Silva, A.C.; Kumar, A.; Wild, W.; Ferreira, D.; Santos, D.; Forbes, B. (2012). *Long-term stability, biocompatibility and oral delivery potential of risperidone-loaded solid lipid nanoparticles*. Int. J. Pharm. 436(1-2): p798-805.

26TCA. Incorporación de un concentrado de proteínas y materia grasa del lactosuero en alimentos

Incorporation of a concentrate of whey proteins and lipids in food products

Carla Ramunno¹, Jimena Ratti¹, Paola Torres^{2,3}, Claudio Fabián Nambuena^{2,3}, Darío Spelzini^{1,4,5}, Valeria Boeris^{1,4,5}

1. Universidad Nacional de Rosario. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Área Físicoquímica. Suipacha 531. Rosario. 2. Instituto de Física Aplicada. Universidad Nacional de San Luis-CONICET. 3. Facultad Regional San Rafael. Universidad Tecnológica Nacional. 4. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). 5. Universidad Católica Argentina. Facultad de Química e Ingeniería del Rosario. Pellegrini 3314. Rosario. Correo electrónico de contacto: valeriaboeris@hotmail.com.

Resumen

Se obtuvo un concentrado de proteínas y materia grasa del suero lácteo (CSL) por coacervación con carboximetilcelulosa y posterior acidificación del medio. Se ensayó la incorporación de dicho concentrado, en reemplazo de leche y manteca o leche, en dos tipos de alimento: pan y queso untable. Se determinó la composición de cada uno de estos alimentos a los que se les incorporó el CSL que, si bien resultó comparable a la del control, en ambos casos los alimentos adicionados con el CSL contuvieron mayor humedad y un menor contenido proteico. Se encontró que ambos alimentos resultaron aceptables desde el punto de vista sensorial ya que fueron calificados positivamente por evaluadores no entrenados. Las propiedades mecánicas de ambos alimentos no se vieron modificadas significativamente por el reemplazo realizado. Se estudió el color de los panes, la estructura de la miga (distribución de tamaño de alveolos) y las propiedades mecánicas de las masas, encontrándose leves diferencias en todos estos parámetros. Por otra parte, el reemplazo parcial de leche por CSL mejoró la capacidad de retención de agua de los quesos unttables. Se concluye que la incorporación del CSL resultó apropiada para la elaboración de estos alimentos.

Palabras clave: pan, queso untable, composición, análisis de textura.

Abstract

A concentrate of proteins and fat from whey (WPFC) was obtained by coacervation using carboxymethylcellulose and subsequent acidification of the medium. The incorporation of that concentrate was assayed in two types of food, as milk or milk and butter replacer: bread and spread cheese. The composition of each one of these WPFC-added food items was determined, being them comparable to those of the control: in both cases the WPFC-added contained higher moisture and lower protein level. It was found that both foods were acceptable from the sensory point as they were positively qualified by non-trained evaluators. The mechanical properties of these products were not significantly modified by the replacement. The bread color, the crumb structure (alveolate size distribution), and the mechanical properties of dough were studied, finding little differences in all these parameters. On the other hand, the partial replace of milk by WPFC improved the water holding capacity if the spread cheese. As a conclusion, the incorporation of WPFC resulted appropriate for the elaboration of these food products.

Keywords: bread, spread cheese, composition, textural analysis

1. Introducción

El suero lácteo (SL) bovino es el subproducto que se obtiene luego de la coagulación de las micelas de caseína durante la elaboración de los quesos. El SL constituye cerca del 90% del volumen de leche y

retiene aproximadamente 55% de los nutrientes (Prazeres et al., 2012). El elevado volumen de SL que se genera al producir quesos es un problema desde el punto de vista medioambiental ya que es altamente contaminante (y no puede ser descartado libremente) debido a su elevado contenido de

materia orgánica (Siso, 1996). El tratamiento del SL con polisacáridos cargados eléctricamente ha sido estudiado por distintos autores (Hansen et al., 1971; Hidalgo and Hansen, 1971; Perez et al., 2009) y es aplicable para la recuperación de proteínas y materia grasa.

Se propone obtener concentrados de proteínas y materia grasa (CSL) e incorporar los mismos a productos lácteos y panificados. Estos alimentos son particularmente apropiados para ser adicionados con estos CSL debido a que son de consumo masivo y que, dada las características estructurales de estos alimentos, no se verían afectadas las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de los mismos (Korhonen et al., 1998). Si bien se ha ensayado la incorporación de aislados de proteínas del suero lácteo (WPI) en distintos alimentos (El-Sheikh et al., 2010), las características del CSL no coinciden con las del WPI comercial por lo que sería de esperar que su incidencia sobre las propiedades de los alimentos no sea comparable.

El objetivo de este trabajo fue aprovechar un CSL obtenido del tratamiento del SL en la elaboración de alimentos. Se propuso el reemplazo de leche (o leche y manteca) por el CSL en dos productos: panes y quesos untables.

2. Materiales y métodos

Obtención del CSL: Se trataron 20 L de SL a los cuales se adicionaron 40 g de carboximetilcelulosa (CMC), se agitó hasta la disolución completa (~1 h), se acidificó hasta pH 3 con ácido cítrico y se dejó decantar a 4 °C durante 8 horas. Se recuperó la fase inferior, rica en proteínas y materia grasa. Parte de este CSL se secó para su conservación por aireación a 40 °C y otra parte se utilizó como aditivo alimentario húmedo.

Elaboración de panes lacteados: Para el pan control se utilizó la siguiente formulación: 500 g de harina, 160 g de leche, 160 g de agua, 5 g de levadura seca, 30 g de manteca, 10 g de sal y 8 g de azúcar. Se amasó durante 12 minutos y se realizaron 2 fermentaciones: la primera durante 20 min y la segunda, de 65 min, luego de un amasado de 18 min. Se horneó durante 65 minutos. Para la elaboración del pan tratado se sustituyó la leche, manteca y sal por el CSL húmedo.

Elaboración de quesos blancos untables: La formulación de los quesos untables se optimizó en este trabajo. Debido a las características ácidas del CSL no resultaba apropiado realizar la coagulación de las caseínas de la leche mediante acidificación con bacterias lácticas sino que se decidió adicionar un ácido orgánico (ácido cítrico) para su

coagulación. Se optimizó la formulación del queso control variando, por un lado, la concentración de cloruro de sodio en función del sabor y de las recomendaciones nutricionales, y por otro, la concentración de ácido cítrico, en función del pH final del sistema. De manera de otorgar textura al producto y retener el suero se utilizó almidón como espesante, cuya concentración se optimizó variándola entre 3 y 5 %. Para obtener el queso tratado se reemplazó parte de la leche por el CSL húmedo. Se ensayaron distintas proporciones de CSL/leche y se determinó el pH al cual era necesario alcalinizar al CSL de manera de que otorgue la acidez apropiada al queso. Se calculó la cantidad de cloruro de sodio que era necesaria adicionar para que la concentración de sodio en ambos quesos sea la misma.

Determinaciones analíticas: Se determinó la composición de SL, CSL seco y de los alimentos elaborados mediante las técnicas apropiadas (AOAC, 2016).

Evaluación sensorial: Se llevó a cabo por los integrantes del laboratorio de trabajo, evaluadores no entrenados. En el caso del pan se realizó primero una prueba hedónica en la cual se puntuó a cada muestra según una escala nominal discreta de 5 puntos: “me desagrada mucho”, “me desagrada”, “ni me gusta ni me desagrada”, “me gusta” y “me gusta mucho”. Por otra parte, se consultó a cada evaluador acerca de la presencia de defectos. La evaluación se realizó 8 horas después de haber elaborado el pan. A los dos días se realizó otra evaluación, en este caso de preferencia, en la que se solicitó a cada evaluador que indique qué pan prefiere. En el caso de los quesos se evaluaron cualitativamente atributos sensoriales de textura y de *flavor*. Se solicitó a los evaluadores que valoren en una escala discreta de 5 puntos (desde “me desagrada mucho” a “me gusta mucho”) cada uno de los siguientes atributos de textura: consistencia, suavidad y astringencia. Por otra parte, se solicitó que indiquen si percibían alguno de los siguientes atributos de *flavor*: a crema, a SL, a cocido, ácido, salado y dulce; y si lo hacían, que indiquen en qué intensidad, en una escala de 3 puntos (“levemente perceptible”, “moderadamente perceptible” o “muy perceptible”).

Ensayos mecánicos: Se realizaron distintos tipos de ensayos según el alimento, como se detalla a continuación. Para los panes se ensayaron las masas y las migas. Las masas se analizaron utilizando un ensayo de compresión y relajación. Se colocó aproximadamente 100 g de cada muestra en un contenedor cilíndrico de 5 cm de diámetro y se comprimió a una velocidad de 2 mm/s con una sonda cilíndrica de 2,5 cm de diámetro hasta un 20% de profundidad. Se sostuvo la tensión aplicada durante 60 s y se determinaron los siguientes

parámetros: fuerza máxima y elasticidad. Estos ensayos se realizaron en masas sin fermentar y en masas después de las dos fermentaciones. La textura de la miga de pan se estudió mediante ensayos de doble compresión de probetas de aproximadamente 10 g de miga, que consistieron en paralelepípedos de base cuadrada de 5 cm de lado y 7 cm de alto que se comprimieron hasta un 60 % con una sonda cilíndrica de 4,5 cm de diámetro a una velocidad de 1 mm/s. Se obtuvieron los siguientes parámetros: dureza y elasticidad. La firmeza de los quesos se determinó mediante ensayos de compresión simple. Las muestras fueron colocadas en contenedores de vidrio de 5 cm de diámetro y se los penetró un 15 % usando una sonda cilíndrica de 4,5 cm de diámetro.

Determinación de color: Se evaluó instrumentalmente el color de los panes (miga y corteza) mediante el análisis digital de imágenes de fotografías de las muestras en una caja de luz, con iluminación blanca uniforme. Se calibró el método utilizando una tarjeta de color it8 y se determinaron los parámetros luminosidad (L^*), transición verde - rojo (a^*) y transición azul - amarillo (b^*) (Soazo et al., 2016). A partir de estos parámetros se calculó el índice de pardeamiento (IP) de la corteza (Ferrer et al., 2005):

Determinación de la distribución de tamaño de los alveolos de la miga de pan (Figura 1): A partir de las fotografías de la miga se obtuvieron imágenes en blanco y negro, por binarización de las imágenes originales. Se utilizó el complemento BoneJ del programa ImageJ para determinar la distribución de tamaños del alveolado (Lombardi et al., 2017).

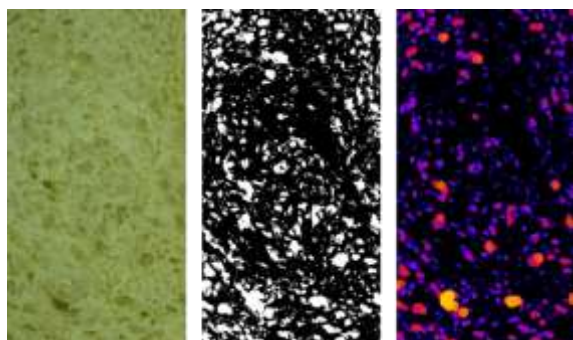


Figura 1. Proceso de determinación de la distribución de tamaños del alveolado. Izquierda: foto de la miga de pan analizada. Centro: binarización de la imagen (los puntos blancos representan los alveolos). Derecha: representación gráfica de la distribución de tamaño (el fondo se conserva de color negro mientras que los alveolos se encuentran coloreados: tonalidades oscuras indican tamaño de poro pequeño, tonalidades más claras indican mayores tamaños de poro).

Capacidad de retención de agua de los quesos: Se ensayó la estabilidad de la fase acuosa de los quesos

evaluando el proceso de sinéresis durante 8 días luego de su elaboración. Muestras de aproximadamente 100 g se envolvieron en tres paños de gasa y se colgaron para permitir la liberación del suero. Se determinó la masa de queso periódicamente.

Análisis estadístico de los datos: Todas las determinaciones se realizaron al menos por triplicado y los resultados que se muestran son el promedio y el desvío estándar de las determinaciones. Para determinar si existen diferencias significativas entre los tratamientos se utilizaron ensayos utilizando la variable t de Student.

3. Resultados y Discusión

La adición de CMC al SL y su posterior acidificación a pH 3 produjeron la coacervación de las proteínas y de la materia grasa. La separación de las fases se observó luego de 2 horas, sin embargo, fueron necesarias 8 horas de incubación para que se complete la decantación (Figura 2).



Figura 2. Sistema separado en fases luego de la incubación de 2 horas (izquierda) y de 8 horas (derecha). La fase inferior corresponde al CSL húmedo.

Por cada litro de SL tratado con CMC al 0,2% se obtuvieron, en promedio, 200 g de CSL húmedo que, cuando se secó, dio lugar a 22 g de CSL seco. El contenido de humedad, proteínas y materia grasa del SL y del CSL seco se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición del SL y del CSL seco

	SL	CSL
Humedad (%)	92,71 ± 0,02	4,2 ± 0,1
Proteínas (%)	0,95 ± 0,01	25,58 ± 0,05
Materia grasa (%)	0,84 ± 0,09	39,2 ± 0,4

Se lograron concentrar los nutrientes del SL en un volumen muy reducido con una recuperación del ~100 % de la materia grasa y del ~60% de las proteínas. Se destaca, por otro lado, que el bajo

contenido de agua de las muestras aumenta su estabilidad microbiológica durante el almacenamiento.

Para la elaboración de los alimentos se decidió incorporar el CSL húmedo de manera de reducir las operaciones unitarias involucradas en el proceso.

Se ensayó la incorporación del CSL en panes lacteados. Los panes obtenidos (Figura 3) tuvieron el mismo rendimiento y mostraron buena apariencia general. Cualitativamente se encontraron diferencias en los siguientes aspectos: los panes tratados presentaron una coloración levemente más oscura que los controles, el alveolado de la miga resultó diferente en ambos tipos de pan y la sensación de “seco” del pan a los dos días de elaborado resultó menor en el pan tratado que en el pan control.



Figura 3. Fotografía de un grupo de panes.
Izquierda: control. Derecha: tratado.

En la Tabla 2 se muestra la composición de los panes. Se obtuvieron diferencias significativas en el contenido de todos los componentes analizados. El contenido proteico del pan tratado (7,7 %) resultó levemente menor que el del pan control (8,8 %) mientras que el contenido lipídico del pan tratado (0,3 %) se vio significativamente reducido respecto del pan control (2,9 %). Esto se debe a que la concentración de proteínas del CSL húmedo es entre un 20 y un 30% menor que la de la leche, por lo que su reemplazo necesariamente genera un detrimento en el contenido proteico del producto. Por otra parte, si bien en el CSL se concentra la materia grasa, la cantidad de lípido que el mismo otorga es muy reducida comparada con la cantidad que aporta la manteca. De acuerdo a lo discutido anteriormente, el contenido de humedad de los panes tratados se vio incrementado respecto de los panes control ya que el CSL contiene más agua que la leche.

Tabla 2. Composición de los panes control y tratado

	Control	Tratado
Humedad (%)	33,0 ± 0,3	42,0 ± 0,4
Proteínas (%)	8,8 ± 0,2	7,7 ± 0,2
Materia grasa (%)	2,9 ± 0,1	0,3 ± 0,1
Cenizas (%)	2,6 ± 0,1	2,9 ± 0,1
Fibras (%)	2,8 ± 0,1	1,3 ± 0,1
Hidratos de Carbono (%)	49,9 ± 0,7	45,8 ± 0,8

La evaluación sensorial de los panes tratados resultó altamente satisfactoria ya que los mismos se calificaron, por todos los evaluadores (n = 18) como “me gusta” o “me gusta mucho”, sin diferencias significativas con el pan control. No se registraron defectos ni tampoco se detectó sabor a suero en ninguno de ellos. Por otro lado, se registró una mayor aceptación del pan tratado a los dos días de su elaboración respecto del pan control, lo que puede relacionarse con una menor extensión del proceso de retrogradación del almidón en el pan tratado debido a la presencia de hidrocoloides (CMC y proteínas del lactosuero) (Zhou et al., 2008).

Ambos panes presentaron cortezas con coloración amarillada y miga de color amarillenta, lo cual resulta característico del producto (Mustafa et al., 2005). Se determinó la luminosidad (L*) y ambos parámetros cromáticos (a* y b*) en cada punto de la corteza y de la miga, de manera de obtener la distribución de cada uno de estos parámetros en cada muestra. No se observaron diferencias significativas en los parámetros cromáticos entre ambos panes pero sí en la luminosidad. En la Tabla 3 se muestra el promedio de la media de la luminosidad y el desvío estándar entre estos valores. Además se muestra la heterogeneidad, calculada como el promedio de los desvíos estándar de cada una de las distribuciones de luminosidad (cada una correspondiente a una muestra). Adicionalmente se calculó el índice de pardeamiento (IP), que considera tanto a la luminosidad como a los parámetros cromáticos, de la corteza de los panes.

Tabla 3. Parámetros de color de los panes

Muestra	L*	Heterogeneidad	IP
Corteza pan control	74 ± 1	9 ± 1	217 ± 5
Corteza pan tratado	84 ± 1	9 ± 1	181 ± 4
Miga pan control	90 ± 2	15 ± 1	-
Miga pan tratado	80 ± 2	12 ± 1	-

La corteza del pan tratado resultó más clara que la del pan control mientras que ocurrió lo contrario al comparar las migas, indicando que la corteza y la miga del pan tratado presentan una coloración similar mientras que en el pan control la corteza es significativamente más oscura que la miga. Por otra parte, la heterogeneidad de la coloración en la corteza resultó similar para ambos tipos de pan. Al

comparar ambas migas, la del pan tratado resultó más homogénea. Sin embargo, las migas resultaron más heterogéneas que las cortezas, lo cual puede explicarse considerando la superficie irregular de las migas. El IP de las cortezas resultó superior para el caso del pan control, lo que podría indicar una mayor extensión de la reacción de Maillard debido a la mayor concentración de azúcares en la leche cuando se la compara con el CSL (Ramirez-Jimenez et al., 2000).

Considerando, por un lado, que hay trabajos que explican las propiedades de los panes según la reología de las masas (Balestra et al., 2011; Rosell et al., 2001) y, por otro lado, que una alteración en la formulación del pan puede producir modificaciones en las propiedades tecnológicas tanto del producto como de las masas (Linlaud et al., 2009), se decidió estudiar las propiedades mecánicas de las masas sin fermentar y de las masas fermentadas mediante ensayos de compresión y relajación (Figura 4).

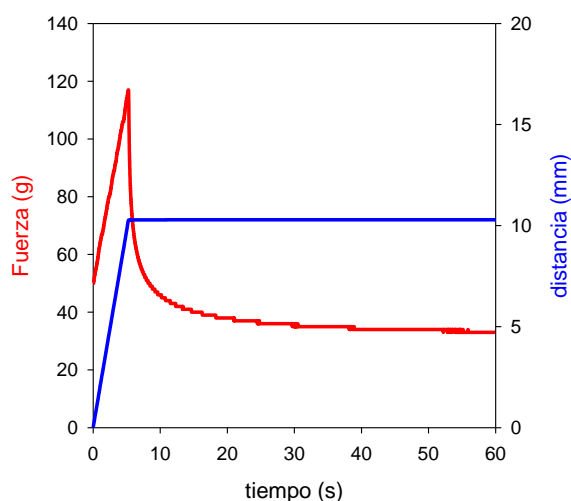


Figura 4. Perfil obtenido en el ensayo de compresión y relajación de una masa de pan control sin fermentar.

En la Tabla 4 se muestran los parámetros de textura de las masas antes y después de fermentar. Se encontró que las masas antes de la fermentación resultaron más firmes (mayor fuerza máxima) para el caso control. Esto puede deberse a que los hidrocoloides adicionados están interfiriendo en la red de gluten que se forma durante el amasado (Bárceñas et al., 2009). Por otra parte, no se observaron diferencias significativas en la fuerza máxima promedio de las masas fermentadas. La elasticidad de las masas sin fermentar control y tratada no difirieron significativamente pero sí se encontró que la masa fermentada tratada fue más elástica que la masa fermentada control, lo que puede atribuirse a que se observó un mayor desarrollo de volumen durante la fermentación para la masa tratada que para la masa control.

Tabla 4. Propiedades mecánicas de las masas

		Fuerza máxima (gf)	Elasticidad
Masa sin fermentar	Control	120 ± 10	0,25 ± 0,03
	Tratado	80 ± 2	0,23 ± 0,01
Masa fermentada	Control	22 ± 3	0,30 ± 0,08
	Tratado	24 ± 1	0,46 ± 0,03

Por otra parte, los ensayos de doble compresión permitieron determinar que ambos tipos de pan presentaron dureza (390 ± 50) gf y elasticidad ($0,90 \pm 0,05$) estadísticamente equivalentes ($p = 0,65$). Los resultados sugieren que los procesos de fermentación y de cocción eliminan las diferencias texturales que el agregado de CSL produce a la masa.

Se determinó la distribución de los tamaños de los alveolos de la miga y los resultados se muestran en la Figura 5.

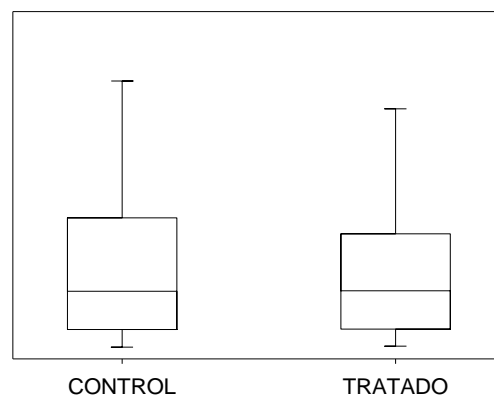


Figura 5. Distribución de los tamaños de los alveolos de la miga de los panes control y tratados.

Las distribuciones resultaron asimétricas, con colas hacia tamaños mayores. De hecho, en ambos casos se encontraron outliers, que se correspondieron con burbujas de mayor tamaño que lo habitual (Mariotti et al., 2013). La mediana de los diámetros de los alveolos de ambos panes fue 0,97 mm; sin embargo, el tercer cuartil resultó menor para el pan tratado (1,8 mm) que para el pan control (2,0 mm). Se concluye que si bien las distribuciones resultaron relativamente similares, la miga del pan tratado contiene alveolos de menor tamaño que la miga del pan control.

Se optimizó la formulación de los quesos untables tipo “queso blanco” de manera de obtener consistencia y textura apropiadas, sabor y olor adecuados y la menor liberación de SL posible. La formulación optimizada para el queso control consistió en: 1 L de leche, 7 g de cloruro de sodio, 4 g de ácido cítrico y 45 g de almidón. Se

homogeneizó en frío, se observó la coagulación de las caseínas de la leche, y se retuvo el SL mediante la gelificación del almidón. Posteriormente se elaboraron quesos adicionados con el CSL. Se encontró que podían formularse quesos tratados, en los cuales la mitad de la leche fue reemplazada por el CSL húmedo levemente neutralizado. En ese caso, fue necesario ajustar el pH de la suspensión acuosa de CSL a 4 antes de que la misma tome contacto con la leche. De esta manera, cuando se mezcla la leche con la suspensión del CSL, el pH resultante es 4,6 (al igual que el pH obtenido para el queso control). A esta mezcla se le incorporaron 2 g de NaCl y 45 g de almidón y se homogeneizó en frío. Se gelatinizó el almidón por agitación y calentamiento a 85°C y se envasaron porciones de 150 g en contenedores de vidrio (Figura 6).



Figura 6. Fotografía de muestras de queso tratado

La composición de los quesos se muestra en la Tabla 5. El contenido proteico del queso tratado (3,1%) resultó levemente inferior al del queso control (4,2%) ya que, como se mencionó anteriormente, la concentración de proteínas del CSL húmedo es menor que la concentración de proteínas de la leche. Por otra parte, el contenido lipídico no se vio modificado ya que la cantidad de materia grasa incorporada por el CSL resulta similar a la que contiene la leche. El queso tratado contiene más cantidad de fibra que el control, debido a la presencia de CMC en el CSL. El contenido de hidratos de carbono, mayoritariamente lactosa, se ve ligeramente disminuido cuando se reemplaza parcialmente la leche por CSL ya que en la lactosa del SL permanece mayoritariamente en la fase superior cuando se realiza la coacervación con CMC. Si bien la leche contiene diversos minerales, el contenido de cenizas del queso control puede atribuirse en gran parte al fosfato de calcio que se encuentra unido a las micelas de caseína de la leche (Lucey and Fox, 1993). Es por esto que en el caso

del queso tratado el contenido de cenizas es levemente menor porque las proteínas que se incorporan con el CSL son las proteínas del SL (principalmente β -lactoglobulina y α -lactoalbúmina) y no caseínas. Teniendo en cuenta lo discutido previamente, puede explicarse el incremento en el contenido de agua en los quesos tratados respecto de los quesos control.

Tabla 5. Composición centesimal de los quesos

	Control	Tratado
Humedad (%)	79,8 \pm 0,2	82,9 \pm 0,3
Proteínas (%)	4,2 \pm 0,1	3,1 \pm 0,1
Materia grasa (%)	3,5 \pm 0,1	3,6 \pm 0,1
Cenizas (%)	1,6 \pm 0,1	1,3 \pm 0,1
Fibras (%)	1,4 \pm 0,1	1,8 \pm 0,1
Hidratos de Carbono (%)	10,9 \pm 0,5	9,1 \pm 0,6

Se realizó una evaluación sensorial por parte de los integrantes del grupo de trabajo de ambos tipos de quesos. Se encontró que los atributos de textura (consistencia, suavidad y astringencia) resultaron significativamente mejor evaluados para los quesos tratados. Por otro lado, si bien los atributos de *flavor* (a crema, a SL, a cocido, ácido, salado y dulce) resultaron aceptables para ambos tipos de quesos, algunos evaluadores calificaron como “moderadamente ácido” o “levemente dulce” al queso tratado. Los mismos evaluadores calificaron como “muy salados” a ambos tipos de queso. Se destaca que ningún evaluador detectó sabor a SL en ninguno de los quesos evaluados.

Adicionalmente, se realizó la evaluación instrumental de la textura de los quesos. Se encontró que la fuerza máxima fue (724 \pm 8) gf para los quesos control mientras que resultó (750 \pm 20) gf para los quesos tratados. Estos valores se encuentran en el orden de los reportados para quesos untables (Valencia García et al., 2007).

Se determinó la estabilidad de la fase acuosa en cada uno de los quesos durante 8 días. Se encontró que los quesos tratados presentaron mayor capacidad de retener suero que los quesos control (Figura 7). Esto puede explicarse considerando que el reemplazo de caseínas por las proteínas del SL favorece la formación de una red proteica estable debido al calentamiento efectuado durante la elaboración del queso (Ju et al., 1999).

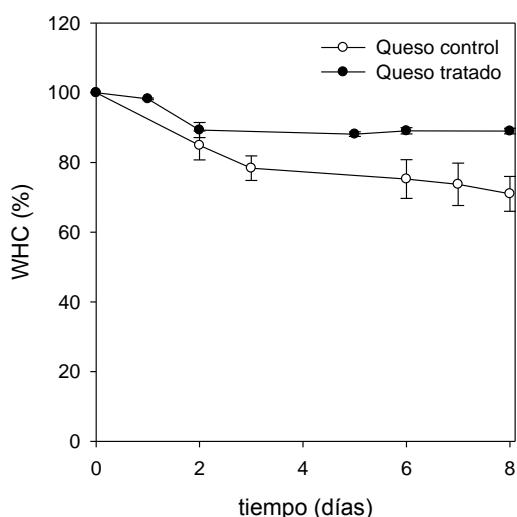


Figura 7. Capacidad de retención de agua de los quesos.

4. Conclusiones

Se obtuvo un CSL de manera sencilla, económica y alternativa a los procesos frecuentemente utilizados para recuperar las proteínas del SL. Se optimizó la incorporación de estos CSL en dos tipos de alimentos en reemplazo parcial de la leche o de la leche y manteca. Se obtuvieron productos aceptables desde el punto de vista sensorial, con composiciones adecuadas para el tipo de producto y sin diferencias significativas en las propiedades mecánicas. Se concluye que es posible el aprovechamiento de estos CSL en panes y quesos untados y que potencialmente podría extenderse su aplicación a otro tipo de alimentos.

5. Referencias

AOAC. (2016) Official Methods of Analysis.

Balestra F., Cocci E., Pinnavaia G., Romani S. (2011) Evaluation of antioxidant, rheological and sensorial properties of wheat flour dough and bread containing ginger powder. *LWT-Food Science and Technology* 44:700-705.

Bárcenas M.E., De la O-Keller J., Rosell C.M. (2009) Influence of different hydrocolloids on major wheat dough components (gluten and starch). *Journal of Food Engineering* 94:241-247.

El-Sheikh M., Farrag A., Zaghoul A. (2010) Ricotta Cheese from Whey Protein Concentrate. *Journal of American Science* 6:321-325.

Ferrer E., Alegría A., Farré R., Clemente G., Calvo C. (2005) Fluorescence, browning index, and color in infant formulas during storage. *Journal of agricultural and food chemistry* 53:4911-4917.

Hansen P.M.T., Hidalgo J., Gould I.A. (1971) Reclamation of Whey Protein with Carboxymethylcellulose. *Journal of Dairy Science* 54:830-834.

Hidalgo J., Hansen P.M.T. (1971) Selective Precipitation of Whey Proteins with Carboxymethylcellulose. *Journal of Dairy Science* 54:1270-1274.

Ju Z.Y., Hettiarachchy N., Kilara A. (1999) Thermal Properties of Whey Protein Aggregates. *Journal of Dairy Science* 82:1882-1889.

Korhonen H., Pihlanto-Leppäelä A., Rantamaeki P., Tupasela T. (1998) The functional and biological properties of whey proteins: prospects for the development of functional foods. *Agricultural and Food Science in Finland* 7:283-296.

Linlaud N., Puppo M., Ferrero C. (2009) Effect of hydrocolloids on water absorption of wheat flour and farinograph and textural characteristics of dough. *Cereal Chemistry* 86:376-382.

Lombardi J., Pellegrino J.M., Soazo M., Corrêa A.P.F., Brandelli A., Risso P., Boeris V. (2017) Mineral fortification modifies physical and microstructural characteristics of milk gels coagulated by a bacterial enzymatic pool. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*.

Lucey J.A., Fox P.F. (1993) Importance of Calcium and Phosphate in Cheese Manufacture: A Review. *Journal of Dairy Science* 76:1714-1724.

Mariotti M., Pagani M.A., Lucisano M. (2013) The role of buckwheat and HPMC on the breadmaking properties of some commercial gluten-free bread mixtures. *Food Hydrocolloids* 30:393-400.

Mustafa A., Andersson R., Rosén J., Kamal-Eldin A., Åman P. (2005) Factors influencing acrylamide content and color in rye crisp bread. *Journal of agricultural and food chemistry* 53:5985-5989.

Perez A.A., Carrara C.R., Sánchez C.C., Rodríguez Patino J.M., Santiago L.G. (2009) Interactions between milk whey protein and polysaccharide in solution. *Food Chemistry* 116:104-113.

Prazeres A.R., Carvalho F., Rivas J. (2012) Cheese whey management: A review. *Journal of Environmental Management* 110:48-68.

Ramirez-Jimenez A., Guerra-Hernández E., García-Villanova B. (2000) Browning indicators in bread. *Journal of agricultural and food chemistry* 48:4176-4181.

Rosell C., Rojas J., De Barber C.B. (2001) Influence of hydrocolloids on dough rheology and bread quality. *Food Hydrocolloids* 15:75-81.

Siso M.G. (1996) The biotechnological utilization of cheese whey: a review. *Bioresource Technology* 57:1-11.

Soazo M., Pérez L.M., Piccirilli G.N., Delorenzi N.J., Verdini R.A. (2016) Antimicrobial and physicochemical characterization of whey protein concentrate edible films incorporated with liquid smoke. *LWT - Food Science and Technology* 72:285-291. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.04.027>.

Zhou Y., Wang D., Zhang L., Du X., Zhou X. (2008) Effect of polysaccharides on gelatinization and retrogradation of wheat starch. *Food Hydrocolloids* 22:505-512.

27TCA. Deshidratación osmótica combinada asistida por ultrasonido para la obtención de un snack natural de manzana y miel

Combined osmotic dehydration assisted by ultrasound for the obtaining of a natural snack of apple and honey

María Belén Bax^{2,3}, Mariana Belén Laborde^{1,3}, Ana María Pagano³

1. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Av. Rivadavia 1917, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. 2. Consejo Interuniversitario Nacional (CIN). 3. Núcleo TECSE, Depto. Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNICEN). Av. del Valle 5737, Olavarría 7400, Argentina. Email mariana.b.laborde@gmail.com.

Resumen

Se estudió experimentalmente la optimización de un proceso osmótico dual (D3S) asistido por ultrasonido para sustituir por miel los azúcares naturales de manzanas *Granny Smith*, complementando con secado para obtener un snack natural de alto valor nutricional. Se trabajó sobre un diseño experimental factorial considerando los parámetros: tiempos de pretratamiento de inmersión de la fruta en agua destilada (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 minutos), frecuencia de ultrasonido (0, 40 kHz), concentración de solución osmótica de miel (40, 55, 70 °Brix), tiempo de ósmosis (60, 120, 180 minutos). El proceso fue evaluado mediante el seguimiento del contenido del peso (W) y del contenido de sólidos solubles (SS) y de humedad (M), con los cuales se calcularon las variables de control reducción de peso (WR), ganancia de sólidos solubles (SG) y pérdida de agua (WL) de las muestras a cada tiempo. Los resultados se realizaron mediante ANOVA y RSM. El proceso dual óptimo que removió la mayor cantidad de azúcares en el pretratamiento (SG= -1.66%) e incorporó más miel en la ósmosis (SG=22.0%) consistió en un pretratamiento de 22.5 minutos asistido por ultrasonido, seguido de ósmosis en solución de miel de 69.4 °Brix durante 173 minutos con aplicación de ultrasonido.

Palabras clave: Deshidratación Combinada, Ultrasonido, Manzana, Miel.

Abstract

The optimization of a dual osmotic process (D3S) assisted by ultrasound was studied experimentally to replace natural sugars of *Granny Smith* apples by honey, complementing with drying to obtain a natural snack of high nutritional value. A factorial experimental design was used considering the parameters: pre-treatment time of immersion of the fruit in distilled water (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 minutes), frequency of ultrasound (0, 40 kHz), concentration of the honey osmotic solution (40, 55, 70 °Brix), osmosis time (60, 120, 180 minutes). The process was evaluated by monitoring the content of the weight (W) and the content of soluble solids (SS) and moisture content (M) of the samples at each time, with which the control variables weight reduction (WR), gain of soluble solids (SG) and water loss (WL) were calculated. The results were made by ANOVA and RSM. The optimal dual process that removed the highest amount of sugars in the pretreatment (SG = -1.66%) and incorporated more honey in the osmosis (SG = 22.0%) consisted of a pretreatment of 22.5 minutes assisted by ultrasound, followed by osmosis in honey solution of 69.4 °Brix for 173 minutes with the application of ultrasound.

Keywords: Combined dehydration, Ultrasound, Apple, Honey.

1. Introducción

Argentina produce una importante variedad de productos de origen vegetal, convirtiéndose los sectores dedicados a su industrialización en áreas de suma importancia y creciente expansión, obligando a realizar todos los esfuerzos necesarios para generar productos innovadores para ganar nuevos mercados acompañados por procesos económicamente convenientes.

La conservación de alimentos de alto contenido acuoso por deshidratación es uno de los métodos más antiguos y conocidos. No obstante, técnicas tradicionales como el secado por aire caliente si bien conducen a la obtención de productos secos de larga vida útil, involucran la exposición a altas temperaturas durante tiempos prolongados, causando diversas alteraciones químicas, físicas, nutricionales y sensoriales (pardeamiento, oxidación de lípidos, cambios de forma, textura, color y sabor, pérdida de vitaminas y aromas) (Doymaz y Pala, 2003; Vega-Gálvez et al., 2009; Abano, 2010; Materano et al., 2011; Chong et al., 2013).

Ante ello, la tendencia actual para estabilizar alimentos de alto contenido acuoso como frutas, es emplear condiciones de deshidratación menos severas que cumplan el objetivo de disminuir la actividad acuosa conservando en lo posible la calidad del alimento fresco. Una de las soluciones con enorme potencial, que actualmente es campo de investigación en todo el mundo y que surge dentro de las nuevas tecnologías emergentes, es la combinación de técnicas de deshidratación en dos o más etapas sucesivas e independientes con otras tecnologías complementarias tales como ultrasonido (Fernandes y Rodrigues, 2007; Jalali et al., 2008; García-Noguera et al., 2010; Oliveira et al., 2012; Rodríguez et al., 2012, 2013; Veloso et al., 2013, 2015; Nowacka et al., 2014; Laborde et al., 2015).

La manzana (*M. domestica*) es una de las frutas más importantes cultivadas en las regiones templadas del mundo (Alva et al., 2013) que es considerada como una “super fruta”, gracias a los componentes activos que contiene que les otorgan propiedades medicinales, dentro de las cuales se pueden mencionar las propiedades antioxidantes de sus polifenoles (Coronado et al., 2015).

En los últimos años el consumidor ha enfocado su atención a los alimentos saludables, con evidencia científica de que la ingesta de alguno de sus componentes o ingredientes añadidos dentro de una dieta normal genera mayores beneficios para la salud. Entre ellos, los snacks de frutas se perciben como alimentos sanos y refrescantes (Alva et al., 2013).

En función de lo expuesto en el presente trabajo se abordó el estudio de una nueva tecnología de deshidratación osmótica combinada asistida por ultrasonido complementada con secado a fin de obtener un producto innovador tipo snack en base manzana y miel de abeja, determinándose las condiciones óptimas de proceso para lograr la mayor incorporación de sólidos solubles propios de la miel con los aportes nutracéuticos otorgados por este producto natural.

2. Materiales y métodos

Materiales

Los ensayos se realizaron a partir de manzanas (*Malus domestica*) de la variedad *Granny Smith* seleccionadas por frescura, color, tamaño, estado de madurez y ausencia de daños, adquiridas en el mercado local de Olavarría y almacenadas en refrigeración (2-5°C) hasta el momento de su procesado.

En la preparación de las soluciones osmóticas se empleó miel de abejas de producción orgánica (marca Arroyo Fresco, Bariloche, Argentina) adquirida en el mercado local de Olavarría (Provincia de Buenos Aires, Argentina).

Preparación de las muestras

Las manzanas frescas se lavaron bajo grifo con agua potable a temperatura ambiente. Posteriormente se procedió al pelado manual y descorazonado. Por último se realizó un corte en cubos de 0.8 cm de longitud mediante cortador doméstico de acero inoxidable.

Los cubos obtenidos fueron caracterizados en cuanto a su peso individual (balanza analítica Pioneer™, precisión ± 0.001 g), contenido de humedad (AOAC, 1990) y de sólidos solubles (refractómetro Abbe, Japón, precisión ± 0.05 °Brix).

Las muestras en cubos se sometieron a un proceso dual (D3S) en dos etapas: la Etapa I de remoción de los azúcares propios de la fruta con y sin aplicación de ultrasonido, y la Etapa II de incorporación de miel de abejas con y sin aplicación de ultrasonido.

Las muestras osmodeshidratadas con azúcares sustituidos por miel se secaron por aire caliente como etapa de finalización de la deshidratación para la obtención de un snack natural estable con humedad inferior al 20% b.h. (base húmeda) (Alva et al., 2013).

Diseño experimental

Se trabajó sobre un diseño experimental factorial considerando los siguientes factores, con tres repeticiones:

Para la Etapa I:

-tiempo de inmersión (tI: 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 minutos)

-frecuencia de ultrasonido (F: 0, 40 kHz)

Para la Etapa II:

-concentración de solución osmótica de miel de abejas (C: 40, 55, 70 °Brix)

-tiempo de inmersión (tII: 60, 120, 180 minutos)

-frecuencia de ultrasonido (F: 0, 40 kHz).

Procedimiento experimental

Etapa I: Las muestras acondicionadas en tamaño se sometieron a un pretratamiento de remoción de los azúcares propios de la manzana mediante ósmosis en agua destilada empleando una relación fruta: solvente de 1:4 (Rodriguez y Fernandez, 2007), a temperatura ambiente, con y sin aplicación de ultrasonido durante diferentes tiempos (tI: 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 minutos), por triplicado. Las muestras llevadas a ultrasonido se trataron a una frecuencia de 40 kHz. El pretratamiento testigo se realizó sin el empleo de ultrasonido (0 kHz). A cada intervalo preestablecido las muestras se extrajeron de la solución acuosa, se escurrieron sobre papel absorbente y se evaluaron peso (W) y en contenido de sólidos solubles (SS) y de humedad (M).

Etapa II: Las muestras provenientes del óptimo tratamiento de la Etapa I fueron sometidas a un proceso de incorporación de miel de abejas (reemplazando los azúcares naturales de la fruta) por medio de ósmosis en soluciones con diferentes concentraciones (C: 40, 55, 70 °Brix) empleando una relación fruta:solución de 1:2, a temperatura ambiente, con y sin aplicación de ultrasonido, empleando diferentes tiempos (tII: 60, 120, 180 minutos), por triplicado. Las muestras llevadas a ultrasonido se trataron a una frecuencia de 40 kHz, mientras que el tratamiento testigo fue la deshidratación osmótica sin ultrasonido. A cada tiempo prefijado las muestras fueron extraídas de la solución hipertónica, escurridas sobre papel absorbente, y luego evaluadas en peso (W), contenido de sólidos solubles (SS) y contenido de humedad (M).

Secado por aire caliente: Las muestras finales de manzana obtenidas bajo las condiciones óptimas de las Etapas I y II se secaron en estufa de aire forzado a una temperatura de 70 °C para reducir el contenido de humedad del snack natural de manzana por debajo de 20% b.h.

Variables de control

El seguimiento del proceso se llevó a cabo a través de la determinación en peso (W, g), contenido de humedad (M, % b.h.) y de sólidos solubles (SS, °Brix) de las muestras a los tiempos especificados, por triplicado.

A partir de estas variables se determinaron las variables adimensionales reducción de peso (WR, %), ganancia de sólidos solubles (SG, %) y pérdida de agua (WL, %) para cada condición experimental, mediante las siguientes ecuaciones:

$$WR = 100 \left(\frac{W - W_0}{W_0} \right) \quad (1)$$

$$SG = 100 \left[\left(1 - \frac{WR}{100} \right) \frac{TS}{100} - \frac{TS_0}{100} \right] \quad (2)$$

$$WL = 100 \left[\left(1 - \frac{TS_0}{100} \right) - \left(1 - \frac{TS}{100} \right) \left(1 - \frac{WR}{100} \right) \right] \quad (3)$$

donde TS₀: sólidos totales iniciales (%); TS: sólidos totales a cada tiempo (%); W₀: peso inicial de la muestra (g); W: peso de la muestra a cada tiempo (g).

Análisis estadístico

Los resultados de la Etapa I se analizaron estadísticamente mediante ANOVA (análisis de varianza) con el software SYSTAT V12 considerando un coeficiente de confianza del 95%, a fin de evaluar el efecto de los factores del pretratamiento sobre las variables de control. Mediante RSM (metodología de superficie de respuesta) se hallaron los polinomios predictivos de la variable principal SG, a partir de los cuales se determinaron las óptimas condiciones para lograr la mayor pérdida de sólidos solubles.

Asimismo, en la Etapa II los resultados fueron analizados mediante ANOVA para determinar los factores influyentes sobre las variables SG y WL. Por RSM se obtuvieron los polinomios predictivos de estas variables fundamentales para la deshidratación osmótica. A partir de ellos se realizó la optimización múltiple basada en criterios de

deseabilidad para definir las condiciones óptimas del tratamiento (concentración, tiempo, frecuencia) que permitan maximizar la función objetivo de alcanzar tanto la mayor ganancia de sólidos solubles y como la mayor pérdida de agua.

3. Resultados y Discusión

Caracterización de las porciones de fruta fresca

Como resultado de la caracterización inicial de las porciones de manzana fresca variedad *Granny Smith*, se obtuvieron los siguientes valores que se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1: Caracterización de la materia prima.

Peso de muestra (g)	Contenido de humedad (% b.h.)	Contenido de sólidos solubles (°Brix)
1,57 ± 3,6	83,81 ± 0,11	10,81 ± 5,1

Pretratamiento

El contenido de sólidos solubles de las muestras sometidas al pretratamiento osciló en el rango de 9.01 a 10.81 °Brix, observándose reducciones del contenido de los sólidos solubles (considerados mayoritariamente azúcares) entre 4 y 14% con respecto a la fruta fresca.

Mientras tanto, la ganancia de sólidos solubles SG de las porciones tuvo la evolución que se muestra en la Figura 1, donde puede apreciarse que en todos los casos se obtuvieron reducciones de los sólidos solubles de las manzanas (SG<0), resultando mayores cuando se empleó ultrasonido.

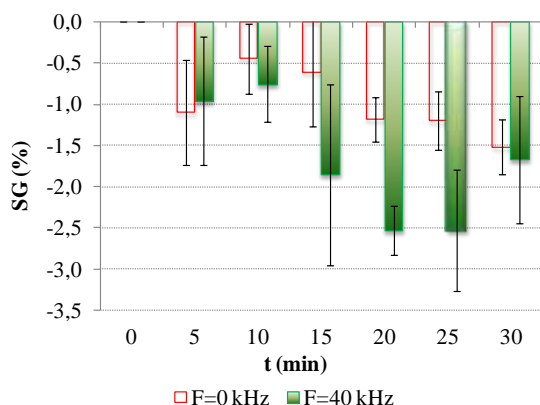


Figura 1. Evolución temporal de la ganancia de sólidos solubles (SG) de los cubos de manzana *Granny Smith* durante el pretratamiento asistido por ultrasonido (F=40 kHz) comparada con el testigo (F=0 kHz).

El análisis de varianza demostró que tanto el tiempo de inmersión (tI) como la frecuencia de ultrasonido (F) influyeron significativamente sobre la pérdida de sólidos solubles de fruta (SG), pero la interacción de estos factores no tuvo efecto significativo en esta variable. En función de ello, se seleccionó el bloque de datos correspondiente al pretratamiento asistido por ultrasonido (F=40 kHz) como más conveniente, ya que permitió lograr más importantes reducciones en los sólidos solubles (azúcares) propios de las manzanas, lo cual significa tener en las muestras una mayor fuerza impulsora (por diferencia de concentración) en la subsiguiente etapa de impregnación con miel por deshidratación osmótica. Para este bloque, la ganancia de sólidos solubles respondió a la siguiente expresión obtenida mediante el análisis de superficie de respuesta.

$$SG = -0.0842 - 0.139 \times tI + 0.0031 \times tI^2 \quad (4)$$

El tiempo óptimo de inmersión en agua destilada para el pretratamiento asistido por ultrasonido (F=40 kHz) que permitió remover la mayor cantidad de los azúcares propios de la manzana, determinado mediante optimización por minimización del polinomio predictivo de SG, correspondió a 22.5 minutos. Bajo estas condiciones se alcanzó un contenido de sólidos solubles SS de 8.6 °Brix, un contenido de humedad M de 85.7 % b.h. y una ganancia de sólidos solubles SG de -1,66 %.

Deshidratación osmótica

Durante la Etapa II del tratamiento dual correspondiente a la impregnación en miel por deshidratación osmótica aplicada a las muestras pretratadas bajo las condiciones óptimas de la Etapa I, se obtuvieron los resultados representados en la Figura 2 para la ganancia de sólidos solubles (SG).

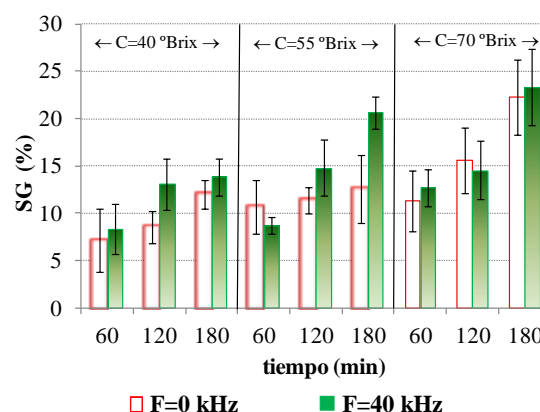


Figura 2. Evolución de la ganancia porcentual de sólidos solubles (SG) de los cubos de manzana *Granny Smith* durante la deshidratación osmótica en soluciones de miel a distintas concentraciones asistida por ultrasonido (F=40 kHz) comparada con el testigo (F=0 kHz).

Para las condiciones ensayadas se obtuvieron diferentes valores de SG, observándose en todos los casos una tendencia a lograr mayor (o eventualmente equivalente) ganancia de sólidos solubles para el tratamiento asistido por ultrasonido a alta concentración y prolongado tiempo de inmersión. El análisis de varianza permitió determinar efecto significativo de los factores tII, F y C sobre la variable de control SG, pero no de sus interacciones.

Respecto de la variable pérdida de agua, WL fue siempre mayor cuando se empleó ultrasonido favoreciendo la eliminación de agua de la fruta (Figura 3). El análisis de varianza permitió determinar efecto significativo de los factores tII, F y C sobre WL, mientras que no hubo influencia de sus interacciones, al igual que en el caso de SG.

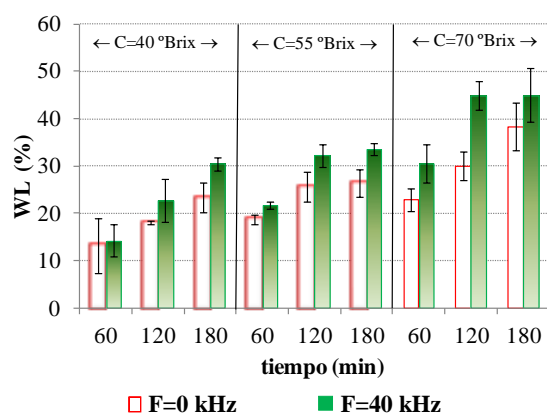


Figura 3. Evolución de la pérdida de agua (WL) de los cubos de manzana *Granny Smith* durante la deshidratación osmótica en soluciones de miel a distintas concentraciones asistida por ultrasonido (F=40 kHz) comparada con el testigo (F=0 kHz).

Atento a este análisis del comportamiento de SG y WL, y con la finalidad de obtener las mejores condiciones operativas para la Etapa II que conduzcan a lograr la mayor incorporación de miel a la fruta con una adecuada eliminación de agua en la deshidratación osmótica, se llevó a cabo un análisis mediante la metodología de superficie de respuesta. Los resultados observados se modelaron para cada uno de los bloques (F=0 kHz y F=40 kHz) a fin obtener los modelos de predicción de las variables SG y WL en función de la concentración del jarabe y del tiempo de ósmosis, tal como se muestran en las siguientes expresiones:

Tratamiento testigo (F=0 kHz):

$$SG = 23.39 - 0.098 \times tII - 0.582 \times C \quad (5)$$

$$WL = 6.75 + 0.063 \times tII - 0.116 \times C \quad (6)$$

Tratamiento asistido por ultrasonido (F=40 kHz):

$$SG = 0.975 - 0.028 \times tII + 0.212 \times C \quad (7)$$

$$WL = -5.08 + 0.416 \times tII - 0.41 \times C - 0.001 \times tII^2 \quad (8)$$

Para la optimización de la Etapa II se planteó en cada caso maximizar la ganancia de sólidos solubles, para aportar a la fruta la mayor cantidad posible de miel, con el consecuente incremento de calidad del producto. Por otro lado, se buscó asimismo alcanzar la máxima pérdida de agua, para posibilitar una reducción del tiempo de secado necesario al final del proceso.

Como resultado de este análisis se obtuvieron los siguientes valores en cuanto a concentración y tiempo de ósmosis en cada caso.

Para la deshidratación osmótica asistida por ultrasonido (F=40 kHz) la mayor incorporación de miel (SG=20.5%) se logró para 173 minutos de proceso a una concentración de solución de miel de 62.1 °Brix, y la máxima pérdida de agua (WL=43.9%) se obtuvo a un tiempo de 138 minutos y una concentración de 69.2 °Brix.

Mientras tanto, cuando no se usó ultrasonido (F=0 kHz) la máxima ganancia de sólidos solubles (SG=17.5%) se alcanzó a los 157 minutos para una concentración de 66.8 °Brix, y la máxima pérdida de agua (WL=33.1%), a los 155 minutos con 67 °Brix, prácticamente coincidentes condiciones para las dos variables de control.

Frente a estos resultados, se decidió llevar a cabo la optimización global de la Etapa II plantándose como función multi objetivo, por un lado, maximizar la ganancia de sólidos solubles de las manzanas, y por otro lado mantener una adecuada pérdida de agua. A tal fin se utilizó un análisis de deseabilidad priorizando la variable SG sobre WL. La Tabla 1 presenta los puntos estacionarios obtenidos y la deseabilidad global.

Tabla 1. Resultados de la optimización multi objetivo de la deshidratación osmótica de los cubos de manzana *Granny Smith* pretratadas.

Frecuencia	Factor	Punto estacionario	Respuesta óptima		Deseabilidad
			SG (%)	WL (%)	
0 kHz	tII	143 min	17.5	33.2	1.00
	C	69.7 °Brix			
40 kHz	tII	173 min	22.0	45.1	1.00
	C	69.4 °Brix			

Resulta evidente que la aplicación de ultrasonido durante la deshidratación osmótica permitió incorporar un 20% más de los sólidos solubles de la miel a los cubos de manzana, produciendo además un 35% más de pérdida de agua en las muestras que el tratamiento testigo sin ultrasonido. Entonces las condiciones óptimas para la Etapa II del proceso dual quedaron determinadas como el uso de una concentración de solución hipertónica de 69.4 °Brix durante 173 minutos de ósmosis asistida por ultrasonido a una frecuencia 40 kHz.

Finalmente, las muestras pretratadas y osmodeshidratadas bajo las condiciones óptimas de las Etapas I y II se secaron a 70°C, requiriéndose 16.5 h para reducir el contenido de humedad hasta 20% b.h. en el snack natural de manzana y miel de calidad diferencial obtenido.

4. Conclusiones

Como resultado de este estudio fue posible obtener un producto innovador tipo snack de manzana osmodeshidratada en miel de abejas de calidad diferencial por medio de un tratamiento osmótico combinado asistido por ultrasonido complementado por secado por aire caliente.

El proceso osmótico dual óptimo, que permitió remover la mayor cantidad de los azúcares propios de las manzanas en la primera etapa del proceso, incorporar la máxima cantidad de miel de abejas (22,08 %) en la fruta con una buena pérdida de agua (45,05%) en la segunda etapa del tratamiento, consistió en la aplicación de ultrasonido durante 22,5 minutos de inmersión en agua destilada, seguido de deshidratación osmótica a una concentración de solución de miel de 69.4 °Brix durante 173 minutos con aplicación de una frecuencia de ultrasonido de 40 kHz.

5. Agradecimientos

Los autores agradecen a la UNICEN, al CONICET, al CIN y a la SPU por el financiamiento y los recursos humanos aportados a la realización de este proyecto.

6. Referencias

Abano, E.E. (2010). *Assessments of drying characteristics and physio-organoleptic properties of dried pineapple slices under different pre-treatments*. Asian Journal of Agricultural Research, 4:155-161.

Alva, H., Bazán Cruz, E., Cabrera Sánchez, J., Huaccha, K., Rojas, S. (2013). *Optimización de humedad y textura en snacks de manzana,*

evaluando espesor y temperatura de secado. Agroind Sci, 2: 91-100.

AOAC. (1990). *Official Methods of Analysis*. Washington, USA: Association of Official Analytical Chemists.

CAA. (1971). *Código Alimentario Argentino*. Ley 18284, Decreto No. 2126/71. Ministerio de Salud, Presidencia de la Nación Argentina.

Chong, C.H., Law, C.L., Figiel, A., Wojdylo, A., Oziemblowski, M. (2013). *Color, phenolic content and antioxidant capacity of some fruits dehydrated by a combination of different methods*. Food Chemistry, 141:3889–3896.

Coronado, M.H., Vega, S., Gutiérrez, L.R.T., Vázquez, M.F., Radilla, C.V. (2015). *Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana*. Rev Chil Nutr, 42(2):206-212.

Doymaz I, Pala M. 2003. The thin-layer drying characteristics of corn. Journal of Food Engineering 60: 125–130.

Fernandes, F.A.N., Rodrigues, S. (2007). *Ultrasound as pre-treatment for drying of fruits: Dehydration of banana*. Journal of Food Engineering, 82:261–267.

García-Noguera, J., Weller, C.L., Oliveira, F.I.P., Rodrigues, S., Fernandes, F.A.N. (2010). *Dual-stage sugar substitution in strawberries with a Stevia-based sweetener*, Innovative Food Science and Emerging Technologies, 11(1):225–230.

Jalali, V.R.R., Narain, N., Da Silva, G.F. (2008). *Effect of osmotic predehydration on drying characteristics of banana fruits*. Ciênc. Tecnol. Aliment., 28(2):269-273.

Laborde, M.B., Barreto, G.P., Pagano, A.M. (2015). *Pasas de uva de bajas calorías obtenidas por deshidratación combinada: optimización del proceso y evaluación de la eficiencia antioxidante*. Avances en Ciencias e Ingeniería, 6(1):17-30.

Materano, W., Zambrano, J., Valera, A., Maffei, M., Torres, C., Quintero, I. (2011). *Measurement of the quality in osmodehydrated papaya in four states of maturity by means of sensory evaluation and some physico-chemical parameters*. Rev. Fac. Agron. (LUZ), 28(1):609-618.

Nowacka, M., Tylewicz, U., Laghi, L., Dalla Rosa, M., Witrowa-Rajchert, D. (2014). *Effect of ultrasound treatment on the water state in kiwifruit during osmotic dehydration*. Food Chemistry, 144:18–25.

Oliveira, F.I.P., Rodrigues, S., Fernandes, F.A.N. (2012). *Production of low calorie Malay apples by dual stage sugar substitution with Stevia-based sweetener*. Food and Bioprocess Processing, 90(4):713–718.

Rodrigues, S., Fernandes, F.A.N. (2007). *Use of ultrasound as pretreatment for dehydration of melons*. Drying Technology, 25: 1791-1795.

Vega-Gálvez, A., Di Scala, K., Rodríguez, K., Lemus-Mondaca, R., Miranda, M., López, J. (2009). *Effects of air-drying temperature on physico-chemical properties, antioxidant capacity and total phenolic content of red pepper (Capsicum annuum, L. var. Hungarian)*. Food Chemistry 117(4): 647–653.

Veloso, M., Núñez, M., Pérez de Villarreal, A., Pagano, A.M. (2013). *Deshidratación osmótica combinada de ciruela europea (Prunus domestica L.) utilizando como agentes miel de abejas y sacarosa: Optimización múltiple del proceso*. Proceedings XIV Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos CYTAL 2013, ISBN 978-987-22165-5-9, Rosario, Argentina, 6 págs.

28TCA. Secado del Hongo Portobello: Influencia de la Temperatura y Velocidad del Aire en la Cinética de Secado.

Influence of temperature and air velocity on the kinetics of Portobello mushroom drying.

Elda Sarlinga², Manuel Mendiguren¹, Andrea Coimbra¹, Roberto Aguerre¹, Francisco Pantuso^{1,2}

¹Universidad de Morón, Cabildo 134, Morón, Bs. As. ²Universidad Nacional de Lujan. Ruta 5 y Constitución, Lujan, Bs. As. sarlagro.3513@hotmail.com

Resumen

Los hongos silvestres comestibles han sido recolectado y consumidos por la gente durante miles de años. en general tienen cuerpo fructífero denominados macrohongos. Existen unas 140 000 especies que producen cuerpos fructíferos de estructura y tamaño suficientes para ser considerado el macrohongos. Es una fuente de carbohidratos, lípidos y proteínas. Tienen una vida corta en anaquel que la mayoría de los vegetales debido a que su velocidad de respiración es alta y no tiene barrera protectora ante la pérdida de agua o ataque microbiano. El objetivo del presente trabajo fue el estudio de la cinética de secado del hongo Portobello (*Agaricus brunnescens*) y la influencia de la temperatura y la velocidad del aire durante el proceso de secado y el ajuste de dicho proceso al modelo propuesto por Peleg. Las temperaturas fueron 30, 40 y 50°C, y a la velocidad del aire de: 0 y 1 m/seg. Se concluye que la velocidad de deshidratación se incrementó al incrementar la temperatura y el flujo de aire, siendo la mayor velocidad de deshidratación 60,97 (Kg agua/Kg_{ss} día⁻¹) para la temperatura de 50°C con circulación de aire, obteniéndose además un excelente ajuste con el modelo de Peleg en todos los ensayos realizados.

Palabras clave: Secado, Hongo, Portobello.

Abstract

Edible wild mushrooms have been collected and consumed by people for thousands of years. In general, have fruiting body called macrofungi. There are about 140 000 species that produce fruiting bodies of sufficient size and structure to be considered macrofungi. It is a source of carbohydrates, lipids and proteins. They have a short life in shelf than most vegetables since their high respiration rate and absence of protective barrier against loss of water or microbial attack. The objective of this work was the study of the kinetics of drying of the Portobello mushroom (*Agaricus brunnescens*) and the influence of the temperature and speed of the air during the drying process and the fitting of such process to the model proposed by Peleg. Temperatures were 30, 40 y 50°C, and at the speed of air: 0-1 m/sec. It is concluded that dehydration speed increased by increasing the temperature and air flow, being the highest speed dehydration 60.97 (Kg water/Kg_{ss} day⁻¹) to the temperature of 50°C with air circulation, obtaining in addition an excellent fit with Peleg model to all the tests.

Keywords: Dried, Fungus, Portobello.

1. Introducción

Los hongos silvestres comestibles han sido recolectado y consumidos por la gente durante miles de años. Los registros arqueológicos revelan que en China donde por primera vez su consumo como alimento varios siglos antes del nacimiento de Cristo (Aaronson, 2000).

Existen muchos hongos de gran beneficio para la salud humana. Uno de ellos es *Penicillium notatum*, el microhongo del cual se obtiene la penicilina. También hay especies que poseen sustancias activas anticancerígenas y antitumorales. Aunque se mencionan las propiedades curativas de los hongos en el Papiro de Ebers – fechado en Egipto en el año 1 500 a.C.–, en Oriente su uso es habitual desde hace más de 4 000 años. Así, el primer libro donde se citaron los hongos medicinales fue en el "Libro de las hierbas de ShenNongs" (2 700 a.C.). Después, Li Shih-chen, durante la dinastía Ming, en otro tratado, recogió información de más de 20 especies de hongos. Dioscoreos, en el año 60 d.C., señala el uso del agarikon (*Fomitopsis officinalis*) tanto por sus propiedades tónicas como en el caso de enfermedades crónicas como para contrarrestar los efectos de picaduras de serpientes venenosas, un uso que también indicaban Hipócrates y Galeno. Más tarde, en el Renacimiento, se utilizó contra las infecciones digestivas y hepáticas.

El cultivo de hongos se inició en el siglo V, hace unos 1 400 años (Chang y Miles, 1987). El interés en los hongos, se debe a que es una fuente de alimento de sabor agradable, con buenos atributos nutricionales.

La producción mundial se duplicó en los últimos 10 años, pasando de 5,3 millones de toneladas en el año 2005 a más de 10 millones en el año 2014. (Fao 2015)

Inicialmente, los hongos fueron clasificados dentro del Reino Plantae ya que fueron considerados organismos inmóviles presentando estructuras que se asientan firmemente en el sustrato sobre el que crecían. Sin embargo, cuando se aplicaron técnicas de biología molecular en los estudios taxonómicos se ha observado que los hongos están más próximos al Reino Animalia que Plantae. Como característica sobresaliente los hongos tienen capacidad de formar largas células tubulares llamadas hifas por un procedimiento de crecimiento apical. Los hongos son el cuerpo fructífero de los macrohongos, que pueden ser epigeos o hypogeos y lo bastante grandes para ser vistos con el ojo desnudo y ser escogidos a mano.

Los mecanismos que dirigen y regulan la formación de cuerpos fructíferos no son conocidos en la actualidad y resultan aún difíciles de explicar; sin embargo es claro que su desarrollo requiere de una modificación del comportamiento normal, invasivo del micelio vegetativo, por otro en el cual las hifas no tengan un crecimiento divergente, sino que converjan para formar un órgano diferenciado. (Moore, 1995).

Se han descrito aproximadamente 500 000 especies de hongos que cumplen con esta definición (Bial y Aristegui, 2002). En la naturaleza, el papel del hongo es producir esporas reproductoras, y su función es dar protección a los tejidos en que se forman las esporas, y permitir la diseminación de las esporas. Los estudios actuales estiman que existen unos 1,5 millones de especies de hongos y que puede haber unas 140 000 especies que producen cuerpos fructíferos de estructura y tamaño suficientes para ser considerado el macrohongos.

El cultivo de los hongos comestibles es un sistema de biotransformación ecológica, pues lo que al hombre le es poco útil y que desecha, como las pajas, bagazos, cascarrillas y pulpas, los hongos lo transforman en alimento proteínico y en mercancía para venta. Además, una vez que se obtuvo el producto comestible, del sustrato residual se puede obtener abono orgánico mediante procesos de composteo y vermicomposteo para la producción de plantas y hortalizas; dado el efecto directo en la conservación y mejora de la calidad de los suelos. (ArdonLopez, 2007)

El hongo Portobello (*Agaricus bisporus*, var. *brunnescens*) es de la misma familia que el champiñón blanco (*Agaricus bisporus*) se destaca por su tamaño y color marrón, su textura es firme. El género *Agaricus* cuenta con unas 300 especies de las que algunas son comestibles y otras son venenosas. Algunas especies comestibles son el champiñón de doble anillo (*Agaricus bitorquis*), el champiñón silvestre (*Agaricus silvestris*, a partir de esta especie se obtuvieron las variedades cultivables), Bola de anís o de nieve (*A. silvicola*) y el champiñón de carne roja (*Agaricus haemorrhoidarius*).

El Portobello se caracteriza por una textura firme y tersa, así como un sabor dulce, fresco y delicado. Bajo en calorías y rico en fibras, aminoácidos y minerales. Es apreciado por sus propiedades antioxidantes y anticancerígenas.

Típicamente los hongos contienen un 85-95% de agua, 3% de proteínas, 0.1% de lípidos, 1% de minerales y vitaminas (Tewari, 1986). Contienen cantidades apreciables de potasio, Fósforo cobre y

Hierro pero bajos niveles de calcio (Anderson y Feller, 1942).

En el caso del Portobello es de talla grande, de hasta 12 cm. Sombrero muy globoso, de hemisférico a aplanado. Posee una cutícula gruesa, color marrón tostado o pardo, con escamas diminutas. Láminas libres y densas, de color gris rosado y al final, pardo oscuro. El pie es blanco, macizo, con anillo inferior de tipo brazaletes. Carne blanca, sólida, gruesa, limpia y olor fúngico muy agradable.

Los hongos frescos son propensos a dañarse; esto es particularmente cierto para los hongos cortados en rebanadas. Esta forma de corte incrementa la superficie del material amplificando este problema. Los mecanismos relacionados con esta degradación incluyen la deshidratación, browning enzimático, y crecimiento bacteriano.

Los hongos tienen una vida más corta en anaquel que la mayoría de los vegetales listos para usar debido a que su velocidad de respiración es alta y no tiene barrera protectora ante la pérdida de agua o ataque microbiano. Dicho proceso respiratorio es probablemente el aspecto más importante a los efectos de evaluar la evolución pos-cosecha. Los hongos, de forma similar que los vegetales, luego de recolectados o cosechados se comportan como seres vivos manifestando el fenómeno de la respiración: El hongo toma oxígeno del aire, lo utiliza en diversos procesos catabólicos (de degradación de sus propios componentes), y expelle dióxido de carbono, agua y calor. La velocidad de respiración es función de muchos factores como la composición inicial, la acidez, etc. y de la temperatura (como cualquier reacción química); cuanto más alta es la temperatura mayor será la velocidad de respiración (Demichelis y Rajchenber 2006).

El agua y, más específicamente, la disponibilidad de agua, es uno de los factores más importantes que controlan la alteración de los alimentos.

Para la conservación de hongos se recurre frecuentemente al secado con aire caliente, requiriéndose reducir su humedad a valores menores a 5,8% para evitar su degradación. Los hongos secos, al rehidratarse, recuperan parcialmente las características de hongos frescos, debido a un cierto grado de daño generado por el tratamiento térmico. (Maroulis y Saravacos, 2003).

El secado no solo modifica el contenido de agua del producto, sino que altera propiedades físicas químicas y biológicas, tales como la actividad enzimática, resistencia al ataque por microorganismos, viscosidad, dureza, aroma, flavor,

palatabilidad de los alimentos (Barbosa-Canovas y Vega-Mercado, 1996).

1.1. Secado convectivo.

Se han propuesto diversos mecanismos para explicar la migración de agua dentro de un sólido que se está secando; los primeros desarrollos se realizaron en base a experiencias de secado con materiales inorgánicos.

Sherwood (1929; 1930; 1932; 1934) propuso que el movimiento de agua dentro del sólido se produce por un mecanismo de difusión en fase líquida, lo cual le permitió aplicar la ley de Fick para predecir la velocidad de secado de diversos materiales. Asimismo, este investigador ha encontrado que fundamentalmente el secado de un sólido puede dividirse en dos etapas:

- a) período de velocidad de secado constante.
- b) período de velocidad de secado decreciente.

En el primer caso la velocidad de secado está determinada exclusivamente por las variables externas del material a secar, a saber, temperatura, humedad relativa, y velocidad de la corriente de aire.

En el segundo caso, desaparece la influencia del caudal de aire en la cinética de secado, ya que la resistencia a la transferencia de materia está determinada por los parámetros cinéticos internos del material. Desde entonces, esta teoría ha ganado la preferencia de muchos autores. Becker y Sallans (1955) la han aplicado al secado de trigo en un rango relativamente bajo de humedades; Jason (1958) la utilizó para describir el secado de carne de pescado.

Por otro lado, Fish (1958) ha descrito el proceso de deshidratación de gel de almidón en términos de la ley de Fick con coeficiente de difusión dependiente de la concentración. Esta hipótesis ha sido empleada por diversos autores tales como Van Arsdell (1947), Hartley y Crank (1949), y Philip (1955) entre otros.

La teoría de Sherwood ha sido objeto de críticas; Hougren y col. (1940) han cuestionado la validez del modelo pues en muchos casos no representa la realidad del proceso de secado.

En todos los casos, debe proveerse al material del calor necesario para la evaporación de agua y por lo tanto es obvio que el secado se produce por un fenómeno simultáneo de transferencia de calor y materia. Existen varios modelos matemáticos en bibliografía que permiten describir dicho proceso durante el secado (Henry, 1939; Whitney y

Porterfield, 1968; King, 1968; Harmathy, 1969; Berger y Pei, 1973; Hayakawa y Rossen, 1977).

Fortes y col. (1981) desarrollaron un modelo basado en la termodinámica de los procesos irreversibles en el cual no es necesario suponer un mecanismo específico de migración de humedad. Dicho modelo ha sido aplicado por estos autores en el análisis de la cinética del secado de trigo. Tanto los resultados de este modelo, como las consideraciones físicas sugieren que durante el secado de este cereal los flujos de líquido y vapor debido a los gradientes de temperatura son despreciables frente a los flujos provocados por los gradientes de concentración. Asimismo, Fortes y col. (1981) han observado que la temperatura en el centro del grano alcanza su valor de equilibrio dentro de los 3 a 5 minutos de iniciado el proceso de secado del grano de trigo, lo cual, de acuerdo con Chirife e Iglesias (1983), representa un 5% del tiempo necesario para alcanzar la humedad requerida para el almacenaje del producto.

Diferentes autores, tales como Becker (1959), Chittenden y Hustrulid (1966), Suárez y Col. (1980), Piñaga y col. (1982), Rovedo y col. (1993) encontraron que el uso de la ley de Fick, en condiciones de isoterminia, permite obtener una buena descripción del proceso. Estos autores han utilizado la solución de esta ley para la difusión en esferas, en estado no estacionario, tanto en su forma analítica como numérica. Puede afirmarse que esta solución de la ley de Fick es la más frecuentemente utilizada en el estudio de la cinética de secado de sólidos.

El objetivo General del presente trabajo es el estudio de la cinética de secado del hongo Portobello (*Agaricus brunnescens*) y la influencia de la temperatura y la velocidad del aire durante dicho proceso de secado.

Los objetivos Específicos son: a.- Comparar si existen diferencias estadísticamente significativas entre las distintas temperaturas de secado a igualdad de velocidad del aire. b.- Evaluar el efecto de la velocidad del aire a igual temperatura. c.- determinar si los datos obtenidos se ajustan al modelo matemático propuesto por Peleg.

2. Materiales y métodos

2.1 Secado:

Para el presente proyecto se utilizó hongos portobello (*Agaricus brunnescens*) con menos de 4 días de cosechados. Los mismos se adquirieron en verdulerías o centros comerciales, tratando siempre que provengan del mismo productor. Dichos hongos se venden en bandejas, de aproximadamente 200 grs. siendo estas clasificadas luego por su tamaño, en tres

grupos, pequeños, medianos y grandes en función del peso de los mismos.

Para proceder a realizar los ensayos se seleccionaron dos hongos que pertenezcan al mismo grupo según su peso, se los corta en dos mitades, obteniéndose de esta manera una muestra compuesta por dos hongos y sus cuatro mitades.

Se registró el peso inicial de cada parte debidamente identificadas previamente, luego se le toma las siguientes observaciones:

- Ancho de pie.
- Largo total.
- Ancho de sombrero.
- Largo de pie.
- Espesor de la mitad del hongo.

Seguidamente fueron colocadas en la estufa con regulación digital de temperatura sobre una rejilla que cuelga del gancho inferior de una balanza Chimadyu, serie UW con conexión a PC., en la cual se tiene identificado cada lugar de cada muestra para garantizar trazabilidad del peso de la misma.

La cinética de secado se realiza registrando la variación de peso de las muestras a intervalos de 2 minutos durante un tiempo no menor a ocho horas. La temperatura utilizada está dentro del rango de 30 a 50°C, y a la velocidad del flujo de aire de: 0 y 1 m/seg. Se dio por finalizado el ensayo cuando no existe variación de peso de las muestras durante cuatro observaciones seguidas.

Se retiró las muestras de la estufa, se pesaron las cuatro mitades y se tomaron nuevamente las medidas de ancho de pie, largo total, ancho de sombrero, largo de pie y espesor y posteriormente se determinó el peso seco.

2.2 Humedad:

Los contenidos de humedad de hongos al inicio y al final del proceso se determinaron secando en un horno del convectivo a 105°C (AOAC,1996). De esta manera se determina peso seco.

2.3. Modelización de la cinética de secado

Para modelar la desorción de agua en distintos alimentos, se utilizó el modelo de Peleg (1988) que viene dada por la siguiente expresión:

$$m_t = m_0 + \frac{t}{k_1 + k_2 t} \quad (1)$$

Dónde:

m_t = Masa en el tiempo t (g)
 m_0 = Masa inicial (g)
 t = tiempo de rehidratación (min)
 k_1 = Constante de ratio de Peleg (s. kg m.s/ kg H₂O)
 k_2 = Constante de capacidad de Peleg (kg H₂O/kg m s)

Con el objeto de interpretar la significación de los parámetros mencionados se deriva la ecuación (1) respecto del tiempo tomándose el límite para $t \rightarrow 0$.

$$\lim_{t \rightarrow 0} \frac{\partial m}{\partial t} = \frac{1}{K_1} \quad (2)$$

Es claro que k_1^{-1} representa la velocidad inicial de secado. Además, tomando el límite para $t \rightarrow \infty$, en la ecuación (2) se obtiene la siguiente relación entre k_2 y el contenido de humedad de equilibrio (m_e)

$$m_e = m_0 + \frac{1}{k_2} \quad (3)$$

Reordenando la ecuación (Ec.1) se obtiene la siguiente forma lineal de la ecuación de Peleg:

$$\frac{t}{m(t) - m_0} k_1 + k_2 t \quad (4)$$

Graficando $t/(m(t)-m_0)$ en función del tiempo de secado se obtendrá una línea recta con k_1 como la ordenada al origen y k_2 como la pendiente de la recta.

Este modelo fue aplicado para cada uno de los tratamientos de los cuales obtuvimos una ecuación y constantes k_1 y k_2 para cada tratamiento (temperatura) obteniéndose los valores de ajuste.

3. Resultados y Discusión

3.1. Cinética de Secado Estático.

Después de la puesta a punto de los equipos y los ensayos preliminares para la calibración del mismo se procedió a dar comienzo con los ensayos de evaluación de la cinética de secado.

Los primeros ensayos (LJ063 a LJ068) se desarrollaron estáticamente, (convección natural). El contenido de humedad inicial de los hongos fue en promedio para los cuatro ensayos de 92,11 %Humedad_(bh) ± 0,9. las temperaturas utilizadas fueron 50, 40 y 30 °C.

En el Figura 1 se muestran los datos experimentales de la cinética de secado para los ensayos, tomándose en común las primeras nueve horas del proceso. En el mismo se observa claramente una correlación positiva entre la temperatura y la velocidad de secado, observándose mayor velocidad a 50°C

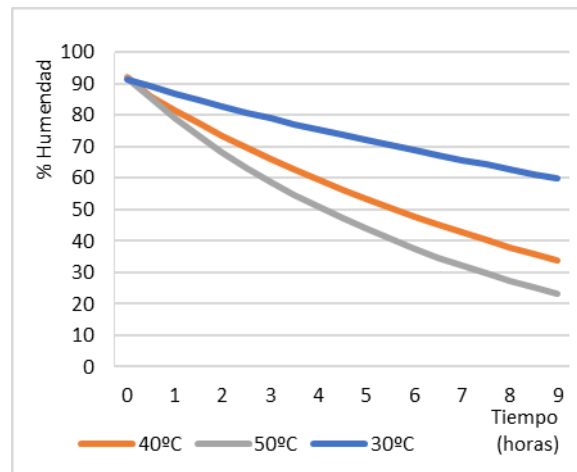


Figura 1 Cinética a 30, 40 y 50°C sin flujo de aire.

Estos resultados nos muestran las diferencias en cuanto a la velocidad de secado que se observan en las primeras nueve horas del proceso, destacándose diferencias significativas entre la curva de 50 y 30 °C, teniendo en cuenta que dicho proceso se realizó en forma estática, es decir sin corriente de aire.

Estos resultados con coincidentes con los obtenidos por Rodandelli *et al* (2015), trabajando en el secado convectivo de Gírgolas (*Pleurotus ostreatus*).

Cuanto se realizó el ajuste de las curvas al modelo de la ecuación de Peleg (figura 2) se observa que la velocidad inicial máxima de secado calculada según la ecuación de Peleg a partir de los valores de k_1 resultaron ser de 14,41; 11,42 y 4,68 (kg agua/kg_{ss} día⁻¹) para las temperaturas de 50, 40 y 30 °C respectivamente, partiendo estos materiales de una humedad inicial de 91,79; 91,87 y 91,36 %Humedad_(bh) respectivamente.

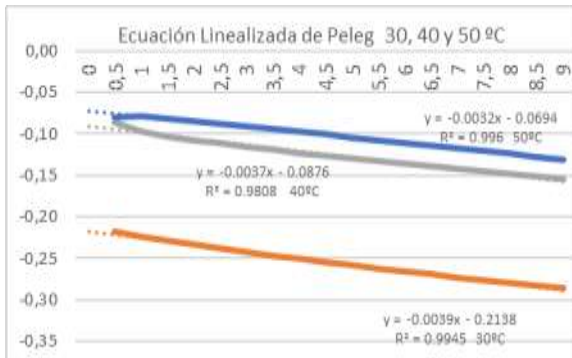


Figura N° 2 Ecuación Linealizada de Peleg (Ec. 4)

En cuanto al ajuste de las curvas al modelo propuesto se observan los siguientes valores de R^2 (0,996; 0,9808 y 0,9945) para las temperaturas de 50; 40 y 30°C respectivamente. Estos valores muestran un excelente ajuste en las cuatro temperaturas evaluadas.

3.2. Cinética de Secado con flujo de aire.

Estos ensayos fueron realizados con un flujo de aire constante a una velocidad de a 1 m/seg.

Los ensayos (LJ069 a LJ075) se desarrollaron con velocidad del flujo de aire entre 1 m/seg. Las temperaturas utilizadas para estos ensayos fueron de 50; 40 y 30 °C. El contenido de humedad inicial de los hongos fue 91,29; 91,31 y 92,41 % (bh) respectivamente dando un promedio para los tres ensayos de 91,71 %Humedad_(bh) ± 0,525

En el Figura 3 se muestran los datos experimentales de la cinética de secado con corriente de aire para los ensayos, tomándose las primeras nueve horas del proceso.

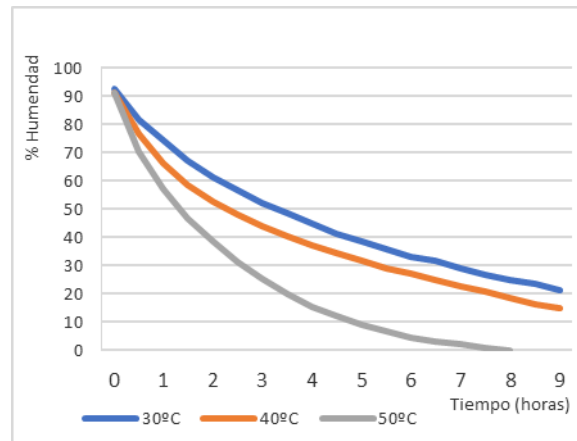


Figura 3 Cinética a 30, 40 y 50°C con flujo de aire.

Al igual que para los ensayos realizados sin corriente de aire se observa claramente una correlación positiva entre la temperatura y la velocidad de secado, observándose nuevamente diferencias significativas entre la curva de 50 y 30 °C, teniendo en cuenta que este proceso a diferencia de los presentados en el Figura 1 se realizó en con corriente de aire a 1 m/seg.

El ajuste de las curvas al modelo propuesto (Figura 4), a las temperaturas de 50; 40; 30°C, muestran los siguientes valores de R^2 : 0,9986; 0,9941 y 0,997 respectivamente. Estos valores presentan un excelente ajuste en los ensayos realizadas con circulación de aire al modelo propuesto de Peleg.

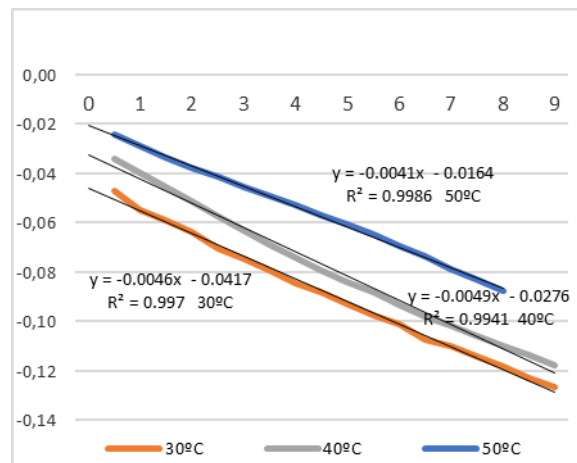


Figura N° 4 Ecuación Linealizada de Peleg (Ec. 4)

Se observa que la velocidad inicial máxima de secado calculada según la ecuación de Peleg a partir de los valores de K^1 resultaron ser de 60,97; 36,23 y 23,98 (kg agua/kg ss día⁻¹) para las temperaturas de 50, 40 y 30°C respectivamente, tal como se estimaba estas velocidades son notoriamente superiores a las obtenidas sin corriente de aire.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo son coincidentes con los obtenidos por Rodandelli *et al* (2015) y Prado *et al* (2012) en cuanto al ajuste del modelo de Peleg, en ambos casos trabajando con *Gírgolas (Pleurotus ostreatus)*

4. Conclusiones

De los resultados obtenidos se observa que la velocidad inicial máxima de secado calculada según la ecuación de Peleg a partir de los valores de k_1 resultaron ser para las tres temperaturas (50, 40 y 30°C) significativamente superiores cuando se utilizó un flujo de aire constante a 1 m/seg de velocidad. En todos los casos el ajuste del modelo propuesto de Peleg fue altamente significativo.

Se encontró que la velocidad de deshidratación se incrementó al incrementar tanto la temperatura como el flujo de aire. siendo la mayor velocidad de deshidratación 60,97 (Kg agua/Kg ss día⁻¹) para la temperatura de 50°C con circulación de aire.

5. Referencias

Abu-Ghannam, N., McKenna, B. (1997). *The application of Peleg's equation to model water absorption during the soaking of red kidney beans (Phaseolus vulgaris L.)*. Journal of food engineering. 32: 391-401

Anderson, R.B. (1946). *Modification of the Brunauer, Emmet and Teller equation*. J. Am ChemSoc. 68: 686-691.

Anderson, R.B.(1946), *Modification of the Brunauer, Emmet and Teller equation*. J. Am ChemSoc 68, 686-691.

AOAC (2000). *Official methods of analysis. Association of official analytical chemist*. Washington D.C., USA.

ArdonLopez (2007). *Producción de Hongos Comestibles*. Facultad de Humanidades Universidad de San Carlos de Guatemala.

Barbosa-Canovas, G.V., Vega-Mercado H.(1996). *Dehydration of Foods*. New York, United States of America, 1: 29.

Barros, L., Baptista, P., Correia, D. M., Morais, J. S., Ferreira, I. C. F. R. (2007). *Effects of conservation treatment and cooking on the chemical composition and antioxidant activity of Portuguese wild edible mushrooms*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55: 4781-4788

Becker, H.A. (1959). *A study of diffusion in solids of arbitrary shape, with application to the drying of the wheat kernel*.J.Appl. PolimerSci., 1: 212.

Becker, H.A. y Sallans, H.R. (1955). *A study of internal moisture movement in the drying of the wheat kernel*.Cereal Chem, 32: 212.

Berger,D. y Pei,D.C.T.(1973). *Drying of hygroscopic capillary porous solids. A theoretical approach*.Int.J.Heat and Mass Transfer, 13, 293.

Bial A. y Aristegui B., (2002). *El reino de los hongos*. Revista Iberoamericana de Micología .Bilbao, España. 1-4.

Bruin,s.(1966). *Calculation of temperature and moisture distributions during contact drying of a sheet of moist material*. Int.J.Heat& Mass Transfer, 12, 45.

Brunauer, S., Emmett,P. H., Teller,E.(1938). *Adsorption of gases in multimolecular layer*. J.Am.Chem. Soc. 60: 309.

Cheung, P. C. K. (2008). *Mushrooms as Functional Foods*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey: 259.

Chirife,J. e Iglesias,H.A.(1983). *Consideraciones sobre la cinética de secado de granos y las humedades de equilibrio durante el almacenaje. Seminario de Refrigeración como medio para disminuir las perdidas post-cosecha*. La Plata, Argentina.

Chittenden,D.H. y Hustrulid, A. (1966). *Determining drying constants for shelled corn*.Trans. ASAE, 9: 52.

De Michelis A. y Rajchelenber M. (2006). *Hongos comestibles: teoría y práctica para la recolección, elaboración y conservación*. Ed. INTA. EEA. Bariloche. ISBN 1667-4006. Pag. 156.

Drouzas, A. E., Tsami, E., Saravacos, G. D. (1999). *Microwave/vacuum drying fruit gels*. J. FoodEng. 39 (2): 117-122.

FAO (2015) FAOSTAT. <http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/S> consultado el 9 de diciembre de 2015.

Fish,B.P. (1958). *Diffusion and thermodynamics of water in potato starch gel. Fundamentals aspects of dehydration of foodstuffs*. Soc. of Chem. Industry, London: 143.

- Fortes, M., Okos, M.R. y Barret, J.R. (1981). *Heat and mass transfer analysis of intra-kernel wheat drying and rewetting*. J.Agric.Engng.Res., 26, 109.
- Harmathy, T.Z. (1969). *Simultaneous moisture and heat transfer in porous systems with particular reference to drying*. Ind.Eng.Chem.Fundam., 8, 92.
- Hartley, G.S. y Crank, J. (1949). *Some fundamental definitions and concepts in diffusion processes*. Trans. Faraday Soc. 45: 801
- Hayakawa, K. y Rossen, J.L. (1977). *Simultaneous heat and moisture transfer in capillary porous material in a moderately large time range*. Lebensm.-wiss. u-Technol., 10, 273.
- Henry, P.S.H. (1939). *Diffusion in absorbing media*. Proc. Roy.Soc.London, 171A, 215.
- Henry, P.S.H. (1939). *Diffusion in absorbing media*. Proc. Roy.Soc.London, 171A, 215.
- Hougen, O.A., McCauley, H.J., and Marshall, W.R., Jr. (1940). *Limitations of diffusion equations in drying*. Trans.AIChE, 36, 183.
- Iglesias, H.A., y Chirife, J. (1982). *Handbook of food isotherms: Water sorption parameters for food and food components*. New York: Academic Press
- Jason, A. C. (1958). *A study of evaporation and diffusion processes in the drying of fish muscle*. *Fundamental Aspects of the Dehydration of Foodstuffs*, Macmillan, New York: 103-135.
- Kausar, T. (1988). *Cultivation of mushrooms using crop residues as substrate*. Tesis Doctoral, Dept of Botany, University of Punjab, Lahore, Pakistan.
- Kaymak-Ertekin, F., Sultanoglu, M. (2001). *Moisture sorption isotherm characteristics of peppers*. Journal of Food Engineering. 47: 225-231.
- King, J. (1968). *Rates of moisture sorption and desorption in porous, dried foodstuffs*. Fd.Technol., 22, 509.
- Krokida, M.K., Maroulis, Z.B., Saravacos, G.D. (2001). *The effect of the method of drying on the colour of dehydrated products*. International Journal of Food Science and Technology, 36 (1): 53-59.
- Kurtzman, R.H. Jr. (1976). *Nutrition of Pleurotissapidus effects of lipids*. Mycologia, 68: 268-295.
- Labuza, T. P. (1984). *Moisture Sorption: Practical aspects of isotherm measurement and use*. Ed. American Association of Cereal Chemists. Minnesota. 1
- Labuza, T. P. (1984). *Moisture Sorption: Practical aspects of isotherm measurement and use*. Ed. American Association of Cereal Chemists. Minnesota.
- Lindequist, U., Niedermeyer, T. H. J. Julich, W. D. (2005). *The pharmacological potential of mushrooms. Evidence-bases*. Complementary and Alternative Medicine (Oxford) 2: 285-299.
- Luikov, A.V. (1966). *Heat and mass transfer in capillary porous bodies*. Pergamon Press, Oxford.
- Maroulis, Z.B., Saravacos, G.D. (2003). *Food Process Design*. Marcel Dekker, Inc. New York, U.S.A. 1st ed.: 243-244.
- Moore, D. 1995. Tissue formation. In: N.A.R. Gow y G.M. Gadd (eds). *The Growing Fungi*. Chapman and Hall. 423-465.
- Philip, J.R. (1955). *Numerical solution of equations of the diffusion type with diffusivity concentration dependent*. Trans. Faraday Soc. 59: 885-892.
- Prado A.C.; Aguerre R.J.; Pantuso F.S. 2012. "Conservación por deshidratación de hongos". Congreso Latinoamericano de ingeniería y Ciencias Aplicadas 2012. Realizado en Fac. Ciencias Aplicadas a la Industria, Universidad Nacional de Cuyo. Del 28 al 30 de marzo de 2012. San Rafael, Mendoza
- Rizvi, S.S.H. (1995). *Thermodynamic properties of foods in dehydration*. In M.A. Rao, y S.S.H. Rizvi (Eds.), *Engineering properties of foods* New York: Marcel Dekker: 223-309.
- Robedo, C.O., Aguerre, R.J., Suarez, C. (1993). *Moisture diffusivities of sunflower seed components*. Int.J.Food Sci. Technol., 28: 159.
- Rolandelli, G; Aguerre R.J.; Ojeda, C; Pantuso F.S. 2015. "Secado convectivo de Gírgolas (*Pleurotus ostreatus*)". Congreso Latinoamericano de ingeniería y Ciencias Aplicadas 2015. Realizado en Fac. Ciencias Aplicadas a la Industria, Universidad Nacional de Cuyo. Del 15 al 17 de abril de 2015. San Rafael, Mendoza. ISBN: 978-987-575-119-4. 1ª Edición.
- Sherwood, T.K. (1929). *The drying of solids-I*. Ind. & Eng. Chem, 21: 12.

- Sherwood, T.K. (1929). *The drying of solids-II*. Ind. & Eng. Chem, 21: 976.
- Sherwood, T.K. (1930). *The drying of solids-III*. Ind. & Eng. Chem, 22: 132.
- Sherwood, T.K. (1932). *The drying of solids-IV*. Ind. & Eng. Chem, 24: 307.
- Sherwood, T. K. (1934). *The drying of solids-VII*. Ind. & Eng. Chem, 26: 1096.
- Suarez,C., Viollaz, P.E.,Chirife,J.(1980). *Diffusional analysis of air drying of grain sorghum*. J. Food Technol., 15: 523.
- Subramanian, T.R. (1986). *Nutritive Value. Mushroom* Extension bulletin. Indian Institute of Horticulture Research, India, 8: 36.
- Tewari, R.P. (1986). *Mushroom cultivation. Extension Bulletin*. Indian Institute of Horticulture Research, Bangalore, India, 8: 36.
- Tsami, E. (1991). *Net isosteric heat of sorption in dried fruits*. Journal of Food Engineering, 14: 327-335.
- United States Department of Agriculture (USDA) (2016). *Mushrooms*. National Agricultural Statistics Service, Agricultural Statistics Board. Washington, D.C.
- Van Arsdel, W. B. (1947). *Approximate diffusion calculations for the falling-rate phase of drying*. Chem. Eng. Prog. 43: 13-24 (also U. S. Bureau Agr. And Ind. Chem., AIC-152, issued at Albany, Calif.)
- Van Arsdel,W.B.(1947). *Approximate diffusion calculations for the falling-rate phase of drying*. Chem. Eng. Prog. 43: 13.
- Whitney, J.D y Porterfield, J.C.(1968). *Moisture Movement in a porous hygroscopic solid*. Trans.ASAE, 11, 716.

29TCA. Agricultura en San Rafael: Evolución histórica de la ocupación del suelo para este uso. Agriculture in San Rafael: Historical evolution of land occupation for this use.

María Belén Rodríguez¹. Adriana B. Guajardo¹. Stella Maris Alcantú¹

¹Facultad de Ciencias Aplicadas a la Industria. Bernardo de Irigoyen 375. San Rafael. Mendoza
rodriguezbelen242@gmail.com aguajard@fcai.uncu.edu.ar salcantu@fcai.uncu.edu.ar

Resumen

El departamento de San Rafael, ubicado al sur de la provincia de Mendoza, ha registrado en los últimos años un importante cambio en los usos del suelo principalmente como consecuencia de los procesos de expansión de la población y de reorientación económica. El presente trabajo analiza cómo ha sido la evolución histórica de la superficie implantada y los tipos de cultivo de mayor importancia en el departamento, así como también indaga sobre cuáles fueron las causas que motivaron estos cambios. Los resultados muestran una disminución de la superficie implantada desde la década del 70' al 2000. Sin embargo en los últimos 15 años, la superficie cultivada ha experimentado un lento aumento en el número de hectáreas con variaciones en los tipos de cultivo más significativos. Estos cambios ocurridos en este tipo de espacios tienen graves consecuencias no solo económicas sino también socioambientales para el departamento. La concentración de la producción agrícola en monocultivos extensivos y el abandono de fincas de pequeños productores que representaban un valor socioproductivo relevante como núcleo familiar y como base de la producción han derivado en un sector productivo frágil y vulnerable a los cambios.

Palabras clave: Agricultura, Uso de suelo, Superficie cultivada, Evolución histórica.

Abstract

The department of San Rafael, located to the south of the province of Mendoza, has registered in the last years an important change in land uses mainly as a consequence of the processes of population expansion and economic reorientation. The present work analyzes how has been the historical evolution of the implanted surface and the types of culture of major importance in the department, as well as it investigates what were the causes that motivated these changes. The results show a decrease in the area implanted from the 70's to the 2000's. However, in the last 15 years, the cultivated area has experienced a slow increase in the number of hectares with variations in the most significant crop types. These changes occurred in this type of spaces have serious consequences not only economic but also socio-environmental for the department. The concentration of agricultural production in extensive monocultures and the abandonment of farms of small producers that represented a relevant socio-productive value as a family nucleus and as a basis for production have led to a fragile productive sector vulnerable to changes.

Keywords: Agriculture, Land use, Cultivated area, Historical evolution.

1. Introducción

El departamento de San Rafael, ubicado al sur de la provincia de Mendoza, ha registrado en los últimos años un importante cambio en los usos del suelo principalmente como consecuencia de los procesos de expansión de la población y de reorientación económica. En particular, la superficie destinada a uso agrícola en el departamento ha mostrado una reducción significativa desde 1970 debido a las crisis económicas que ha sufrido el sector

agropecuario y al avance de los emprendimientos inmobiliarios sobre tierras aptas para cultivo.

En el caso de áreas periurbanas y rurales cercanas a la ciudad de San Rafael que se caracterizaron durante varios años por la presencia de fincas dedicadas a la producción de vid, frutales y hortalizas, éstas han ido desapareciendo para dar lugar a nuevas urbanizaciones.

Las consecuencias de esta modificación son evidentemente la pérdida de áreas aptas para la agricultura, que en la mayoría de los casos poseen derecho de riego, pérdida de paisaje rural y disminución del cinturón verde del área urbana como importante zona de provisión de servicios ambientales y abastecimiento de productos hortícolas para la ciudad (Otta, 2014). También la alteración de la red de distribución hídrica y los conflictos sociales asociados son algunas de las problemáticas que se derivan de este cambio en el uso del suelo agrícola en el departamento.

Todas estas problemáticas ocurren en un territorio de alta fragilidad ambiental como lo es el oasis sur de la provincia. Desde la primera ocupación en la región, ocurrida en 1805 con la creación del Fuerte Militar San Rafael del Diamante, comenzó el proceso de conformación de este oasis por medio del aprovechamiento intensivo del agua de los ríos Diamante y Atuel, lo que permitió crear un ambiente propicio para el desarrollo humano y agrícola en esta zona. Pero al igual que en los oasis del norte y centro de la provincia, la variabilidad de los caudales de los ríos año tras año (debido a que los mismos están sujetos a los aportes níveos de la Cordillera de los Andes), sumado a los efectos del cambio climático, los procesos de explosión demográfica y la falta de políticas de planificación y gestión concretas del territorio han originado una serie de transformaciones desfavorables en estas áreas que son vitales para la economía provincial.

Es por ello, que en el presente trabajo se plantea como objetivos realizar un estudio de la evolución histórica del uso del suelo destinado a la agricultura en San Rafael, principalmente en los últimos 30 años, y analizar las causas que han originado la modificación de este uso. También se pretende cuantificar en base a datos de diferentes censos las superficies destinadas a los principales cultivos del departamento y su variación en los últimos años.

Como hipótesis, se considera que ha habido una reducción significativa en la superficie cultivada del departamento desde la década del 70' así como también una reorganización en los tipos de cultivos de mayor importancia en la economía local. La baja rentabilidad del sector agrícola, las condiciones climáticas desfavorables como las heladas y el granizo sumadas al desarrollo de otras actividades económicas han provocado el abandono de fincas y su fraccionamiento dando lugar a un crecimiento urbano desorganizado de la ciudad hacia zonas antes productivas.

2. Materiales y métodos

Para el cumplimiento de los objetivos establecidos, se realizó primeramente una búsqueda bibliográfica sobre el pasado histórico de San Rafael, sumado al análisis de los datos cuantitativos aportados por diferentes Censos Nacionales y Agropecuarios para diferentes periodos históricos. También se consultaron algunas tesis sobre cambio de uso de suelo y Ordenamiento Territorial para el abordaje de la temática.

Se realizaron entrevistas a expertos, por ejemplo sobre la problemática del recurso hídrico relacionada a los nuevos usos del suelo agrícola, se consultó con especialistas de la Dirección General de Irrigación Subdelegación Río Diamante.

Para hacer un relevamiento de las parcelas en las que se ha modificado el uso del suelo en los últimos diez años se realizó reconocimiento remoto utilizando los software de Google Earth y GIS con los archivos de imágenes satelitales que estos poseen.

3. Resultados y Discusión

Con la fundación del Fuerte San Rafael en 1805 y el desvío del río Diamante hacia el noreste hasta su desembocadura con el río Salado en 1808 comenzó no solo la ocupación de las tierras del sur mendocino sino también el desarrollo del oasis sur. La economía local en aquella época estaba reducida a una ganadería extensiva a base de animales criollos que se comercializaban con Chile y que se alimentaban con pasturas naturales o forrajeras que se cultivaban alrededor del Fuerte, además de algunos cultivos de subsistencia como el maíz, el trigo, y algunas hortalizas (Denis, 1968).

El cambio económico-productivo surgido en la década de 1870, originado por la fuerte competencia que ofrecían las provincias del este argentino en materia de ganadería y cereales (Richard Jorba, 2000), impulsó el desarrollo de la vitivinicultura en toda la provincia a partir de una serie de beneficios que se otorgaban a su cultivo como la exención de impuestos, las concesiones de agua para riego y la oferta de créditos (Cantarelli, 2013). Este hecho, sumado a las mejores condiciones para la agricultura que ofrecían los terrenos ubicados en la planicie aluvial de San Rafael (donde se ubica actualmente la ciudad cabecera del departamento) y la disponibilidad de agua de riego gracias a la red de canales derivados del río Diamante construidos hasta ese momento, fomentaron el traslado de los pobladores a esta zona y el parcelamiento de las grandes estancias para el cultivo de la vid.

Con la llegada del ferrocarril en 1903 y la construcción del puente sobre el río Diamante en 1907 comenzó la ocupación masiva de estos terrenos y la conformación del espacio urbano de la ciudad de San Rafael. El tren favoreció el crecimiento de la actividad vitivinícola de la zona, impulsando no solo el cultivo sino también el establecimiento de bodegas y la producción de vinos ya que aseguraba una comercialización segura y amplia de la producción para los productores locales (Cantarelli, 2006). Paralelamente a la industria vitivinícola, los secaderos de fruta tuvieron un fuerte crecimiento gracias al apoyo de las compañías inglesas que explotaban los ferrocarriles (Denis, 1968).

Pero el desarrollo acelerado y excesivo de la vid, cuya superficie cultivada llegaba a las 12.901 ha en 1914, derivó en una fuerte crisis al estallar la Primera Guerra Mundial (1914-1918). Esta primera crisis económica condicionó la orientación de los cultivos, ya que en los años posteriores a la finalización de la misma se comenzaron a introducir algunas variedades de frutales y se plantaron olivos de forma intercalada en las viñas durante la época de plaga de filoxera, lo que llevó inexorablemente al establecimiento de secaderos de fruta, fábricas conserveras, fábricas de aceite y aserraderos para la fabricación de cajones para fruta (Denis, 1968).

Si bien la ganadería seguía siendo por aquellos años una de las actividades económicas más importantes, la erupción del volcán Descabezado en 1932 cuyas cenizas alcanzaron el departamento provocaron un desmejoramiento del suelo y la pérdida de pasturas, que sumados a los efectos negativos de las cenizas en los animales (como dificultades en la respiración, irritación ocular y ceguera, problemas digestivos por ingesta de cenizas, intoxicaciones y abortos) derivaron en un estancamiento en la actividad ganadera durante los siguientes años, lo que condicionó su importancia en la economía local. Según Denis (1968) “el resultado más positivo de esa serie de factores adversos fue el notable cambio en la economía agraria del sur mendocino al imponerse definitivamente los cultivos permanentes y anuales más diversificados, industriales e intensivos, sobre la primacía tradicional de la ganadería, que de allí en adelante desempeñaría un papel cada vez más secundario.”

Respecto a la superficie cultivada, el Censo Nacional Agropecuario de 1937 muestra datos interesantes sobre los principales cultivos del departamento en ese año (tabla 1).

Tabla 1. Superficie cultivada en San Rafael, 1937

Alfalfa	19.811
Vid	12.317,3
Maíz	6570
Durazno	2718
Pera	1502
Ciruela	1387
Trigo	1275
Cebada	585
Papa	574
Manzana	408
Olivos	359,5
Ajés/Pimientos	75

Fuente: Elaboración propia en base al Censo Nacional Agropecuario 1937.

Finalizada la Segunda Guerra Mundial (1939-1945) hubo un gran impulso a la urbanización y a la industrialización en el departamento, con una fuerte disminución en la extensión de las explotaciones agropecuarias, sumado al cambio en los tipos de cultivos y el éxodo de pobladores rurales hacia el núcleo urbano. Denis (1968) afirma que hubo “una baja del 15% en la superficie cultivada entre 1947 y 1952 coincidente con el periodo más activo de la construcción de viviendas en la ciudad” y que al mismo tiempo “varias fábricas se instalaron en el radio urbano de San Rafael y General Alvear o en las proximidades”.

La vitivinicultura del departamento aún no se había recuperado de las sucesivas crisis, por lo que la superficie cultivada con vid no aumentó considerablemente mientras que si lo hicieron los frutales, llegando a cubrir 13.716 ha en 1947 (Denis, 1968). Este aumento notorio en la superficie cultivada con frutales se debió fundamentalmente al establecimiento de fábricas conserveras y secaderos (estos últimos sumaban 330 en 1947) en la playa de San Rafael. El ciruelo y el durazno pasaron a ser los frutales más importantes debido a sus buenos rendimientos y su perfecta adaptación climática a la zona, mientras que otras especies como manzanos y perales fueron dejándose de lado, principalmente por la fuerte competencia ejercida por las provincias de Neuquén y Río Negro. En cuanto a las hortalizas, el tomate y el pimiento fueron los cultivos elegidos por su buena adaptación a los suelos salitrosos y con difícil drenaje del este del departamento (y los correspondientes a General Alvear) y por su buen rendimiento industrial.

Tipos de cultivo	Hectáreas
------------------	-----------

Para el año 1967, Denis (1968) realizó un interesante estudio sobre la distribución de los diferentes cultivos en el departamento y concluyó lo siguiente:

“A partir del oeste, se encuentra la primer terraza valorizada en el distrito de 25 de Mayo [...] se notará enseguida la ausencia de viñedos y también de bodegas. Ante todo dominan cultivos de forrajeras y de hortalizas (papa y cebolla) con algunas parcelas de manzana y algunas plantaciones de álamos.”

“Al llegar al sector de la playa propiamente dicha, en los sectores de Las Paredes y Cuadro Nacional, los viñedos comienzan de golpe a ocupar la mayor parte del espacio, a intercalarse también con amplias extensiones plantadas en frutales (entre los cuales dominan duraznos y ciruelos, y en menor escala, perales). Hasta la altura de Ciénegas Grandes (ubicadas en Cuadro Nacional) y su prolongación hacia el sur esta consociación de viñedos y frutales ocupa casi la totalidad del agro, con excepción del apéndice norte-sur correspondiente a la playa de Las Malvinas. [...] La alfalfa ocupa el 30% del espacio cultivado, dando lugar a la presencia de varios tambos. Unos bosques de álamos, cultivos de maíz, papas y pimientos completan el paisaje agrario en el área.”

“Dentro de un radio de 15 km desde el núcleo urbano de San Rafael, se notará la ausencia casi completa de cultivos de hortalizas. Por su parte los damascos se concentran sobre todo en las proximidades de la ciudad y los durazneros dominan en los distritos de Cuadro Nacional, Goudge y Cañada Seca. [...] Varias parcelas de alfalfa salpican todavía el extenso sector este. [...] En el caso del manzano, la producción local no resulta competitiva con la de Tunuyán y menos aún con la de Neuquén por la falta de frigoríficos.”

“Al llegar al límite este de los distritos de Cuadro Nacional, Goudge y Cañada Seca, y en los de Monte Comán y Real del Padre, los cultivos de hortalizas empiezan poco a ocupar más espacio proporcionalmente y en particular el tomate y el pimiento [...] (en San Rafael) están radicados los más importantes cultivos de tomate y pimiento, que representan el 65% y el 70% de la superficie dedicada a dichos cultivos en la provincia.”

“Otros cultivos de hortalizas (poroto, arveja, melón, etc.) se hacen también para abastecer al mercado de consumo local. Pero en el sur mendocino, el cultivo de huerta solo se realiza en pequeña escala.”

“En el caso del maíz, la demanda local se mantiene a razón del aumento en el número de gallineros y de

criaderos de cerdos. Por lo general la producción de huevos, pollos, lechones o jamones no logra abastecer completamente al mercado local.”

“Los verdaderos bosques naturales han desaparecido casi por completo por el gran aprovechamiento que se ha hecho de sus maderas [...] Los bosques de algarrobo en particular y otras especies autóctonas de la zona han sido taladas en un grado superior a sus posibilidades de recuperación.”

Los fenómenos climáticos, principalmente el granizo, condicionaron también la distribución de los cultivos en las fincas del departamento ya que se acostumbraba (y se sigue haciendo) tener varias parcelas con diferentes cultivos para asegurarse que ante la pérdida de algunos productos debido a una granizada o helada, todavía quedaran otros cultivos que permitieran al productor recuperarse económicamente de estos eventos.

Los cambios ocurridos luego de la Segunda Guerra Mundial influyeron no solo en las hectáreas cultivadas del departamento sino también en el tamaño medio de las explotaciones que tuvieron un descenso de un 29% entre 1947-1969 (tabla 2).

Tabla 2. Evolución de la superficie cultivada en San Rafael, 1947 - 1969

	1947	1952	1960	1969
Superficie cultivada en hectáreas	74.579,0	60.936,4	69.005,3	72.574,0
Número de explotaciones	5559	5561	5784	7634
Superficie promedio por explotación en hectáreas	13,4	11,0	11,9	9,5

Fuente: Estudio socio-económico departamental de la provincia de Mendoza (1973).

Respecto la cantidad de hectáreas por cultivo, la vid ocupaba la mayor parte de las tierras cultivadas del departamento seguida por los frutales y las forrajeras (tabla 3). De hecho, en 1970 San Rafael era el departamento con mayor superficie dedicada a la vitivinicultura de la provincia (43.552 ha correspondientes al 20,4%). El número de las explotaciones vitícolas del departamento pasó de 4301 en 1960 a 6350 en 1969 pero siguiendo la tendencia general el tamaño medio de la explotación disminuyó de 8,6 ha a 6,8 ha (Martínez *et al.*, 1973). El gran aumento tanto a nivel provincial como departamental en el cultivo de la uva tuvo su freno luego de 1970 producto de la reorientación del

consumo hacia otro tipo de productos como la cerveza y las gaseosas. Este hecho, junto al exceso de producción de uva criolla provocaron una nueva crisis en el sector vitivinícola, fundamentalmente por el ascenso de la oferta y el descenso de la demanda (Roig, Lacoste, & Satlari, 2004).

Tabla 3. Distribución de cultivos en San Rafael, 1969

Tipos de cultivo	Hectáreas	%
Vid	42.977	59,2
Frutales	13.971	19,2
Forrajeras y cereales	7985	11
Hortalizas	3538	4,9
Forestales	3221	4,4
Olivos	837	1,2
Aromáticos y flores	45	0,1
Total	72.574	100

Fuente: Estudio socio-económico departamental de la provincia de Mendoza (1973).

Tabla 4. Distribución de cultivos en San Rafael, 1988

Tipos de cultivo	Hectáreas	%
Vid	24.311,5	43,64
Frutales	15.227,8	27,34
Forrajeras	7206,6	12,94
Bosques y/o montes	5424,5	9,74
Hortalizas	2103,7	3,78
Cereales	609,7	1,09
Olivos	598,3	1,07
Otros cultivos	111,2	0,20
Cultivos doble propósito	49	0,09
Cultivos Industriales	26,5	0,05
Floricultura y aromáticas	18,8	0,03
Legumbres	9,9	0,02
Oleaginosas	5,5	0,01
Total	55.703	100

Fuente: Elaboración propia en base al Censo Nacional Agropecuario 1988.

En 1988, el censo agropecuario de ese año mostró un descenso en la superficie cultivada del departamento de 16.871 ha, es decir un 23% respecto a 1969 (tabla 4). En cuanto a los tipos de cultivos, la vid seguía siendo el principal cultivo del departamento, aunque el descenso en la superficie cultivada luego de la crisis fue muy marcado: 18.665,5 ha que representaron un 43,4% del valor de 1969.

En el caso de los frutales y olivos, si analizamos el número de plantas respecto al de 1969, vemos que los ciruelos, los damascos y las peras fueron las únicas especies que aumentaron en número (tabla 5).

Tabla 5. Frutales y olivos. Evolución del N° de plantas

Frutales	1969	1988
Duraznos	3.805.400	2.505.298
Ciruelos	1.563.060	1.984.746
Damascos	252.520	293.983
Manzanas	229.080	80.698
Peras	486.530	738.271
Membrillos	174.360	140.355
Olivos	227.890	70.977

Fuente: Elaboración propia en base al Censo Nacional Agropecuario 1988 y al Estudio socio-económico departamental de la provincia de Mendoza (1973).

Durante la década del 90', la vitivinicultura del departamento sufrió una serie de transformaciones que conllevaron principalmente en la disminución en la superficie cultivada y una reconversión en el tipo de varietales donde se remplazaron las variedades criollas por finas como Malbec, Cabernet Sauvignon, Merlot y Syrah (Cantarelli, 2010). Según datos de un informe realizado por el INV (Instituto Nacional de Vitivinicultura) en 2016 para la zona sur mendocina, la superficie cultivada con vid en el departamento tuvo un descenso del 25,3% en diez años.

Tabla 6. Evolución de la superficie cultivada con vid, en hectáreas

	1990	2000
San Rafael	21.661,8	16.181,02
Provincia	146.708	141.081

Fuente: Informe para el área sur de la provincia de Mendoza del INV (2016)

Más en detalle, una estimación realizada por Cantarelli (2010) en base a datos del INV muestra la disminución de la superficie con viñedos en cada distrito de San Rafael en el período 1990-2001. El principal distrito productor de vid, Cañada Seca, sufrió un descenso en la superficie cultivada de casi un 25%.

Tabla 7. Superficie con viñedos por distritos en hectáreas, 1990-2001

Distrito	1990	2001
----------	------	------

Cañada Seca	3168,2	2384
Las Paredes	3068,1	2308
Real del Padre	2833,4	2132,1
Cuadro Nacional	2685,5	2020,8
Goudge	2001,8	1506,4
Villa Atuel	1907,1	1435,1
Rama Caída	1255,4	944,7
Jaime Prats	1182,4	889,7
Cuadro Benegas	1078,8	811,8
La Llave	954,6	718,3
El Cerrito	668,6	503,2
San Rafael	499,5	375,8
Monte Comán	279,9	210,6
Las Malvinas	78,4	58,9
Total	21.661,8	16.300,3

Fuente: Transformaciones de la viticultura del sur de Mendoza en la década de 1990 (2010).

Tabla 8. Distribución de cultivos en San Rafael, 2002

Tipo de cultivo	Ha
Frutales	15.646,5
Vid	15.240,4
Forrajeras	9472,4
Olivos	4956,3
Bosques y montes	2205,3
Hortalizas	1.941
Cereales para grano	338,1
Cultivos para semillas	141,2
Aromáticas, medicinales y condimentarias	123,2
Viveros	100,1
Flores de corte	11,4
Legumbres	1,6
Industriales	0,5
Oleaginosas	-
Total	50.178

Fuente: Elaboración propia en base al Censo Nacional Agropecuario 2002.

Años después, el censo agropecuario de 2002 mostró una disminución en la superficie cultivada de unas 5525 ha, casi un 10% de lo que había en 1988 (tabla 8).

Luego de varios años de crisis, la vid dejó de ser el principal cultivo del departamento y fue desplazado por los frutales (tabla 9). Dentro de este grupo, la superficie destinada a ciruelos y olivos creció de

forma apreciable (del total de la superficie de olivo, 4716 ha estaban destinadas a la producción de aceite).

Tabla 9. Frutales y olivos. Evolución de la superficie cultivada en hectáreas

Frutales	1988	2002
Duraznos	6250,6	4556,4
Ciruelos	4953,9	7100,6
Peras	1880,5	1886,6
Damascos	1251,4	1099,9
Olivos	598,3	4956,3
Manzanas	287,6	170
Membrillos	286,6	607,1

Fuente: Elaboración propia en base a Censos Nacionales Agropecuarios 1988 y 2002.



Figura 6. Distribución porcentual de la superficie cultivada, 2002.

Fuente: Elaboración propia en base al Censo Nacional Agropecuario 2002.

Las forrajeras aumentaron en 2265,8 ha respecto a 1988 pero los bosques y montes implantados tuvieron un fuerte descenso de casi un 60% (5424,5 ha en 1988).

El último censo agropecuario (2008) muestra que en seis años la superficie con vid disminuyó en un 10,4% quedando nuevamente como el segundo cultivo en importancia del departamento (tabla 10).

La superficie destinada a frutales creció por el cultivo de ciruelos, que pasaron de 7100,6 ha en 2002 a 9649,2 ha en 2008 debido a un entusiasmo

generalizado en la provincia frente al alza de los precios para ciruelas de exportación debido a las pérdidas en las cosechas estadounidenses durante las campañas 2003-2006.

Los olivos destinados a la producción de aceite registraron también un alto crecimiento de casi un 43% en seis años (6736,8 ha en 2008). La superficie implantada con peras y manzanas disminuyó, manteniéndose la tendencia percibida desde 1950. En el caso de los duraznos, el descenso fue de casi un 18% en seis años.

Tabla 10. Distribución de cultivos en San Rafael, 2008

Tipo de cultivo	Ha
Frutales	16.639,2
Vid	13.662,2
Forrajeras	8141,2
Hortalizas	7372,05
Olivos	6869,5
Bosques y montes	1435
Cereales para grano	396
Aromáticas, medicinales y condimentarias	223,9
Cultivos para semillas	154,5
Viveros	86
Oleaginosas	5
Flores de corte	2,91
Legumbres	-
Industriales	-
Total	54.987,46

Fuente: Elaboración propia en base al Censo Nacional Agropecuario 2008.

Nuevamente se ve que la superficie implantada destinada a bosques y montes continuó disminuyendo en el departamento. Este hecho va de la mano con el avance del área urbanizada hacia zonas de uso agrícola o uso forestal, principalmente áreas periurbanas y rurales contiguas a éstas, con la consecuente erradicación de las especies arbóreas y la vegetación que allí se encontraba. Entre 2002 y 2008 esta reducción fue de un 35%.

Tabla 11. Frutales y olivos. Evolución de la superficie cultivada en hectáreas

Frutales	2002	2008
Duraznos	4556,4	3745,6
Ciruelos	7100,6	9649,2
Peras	1886,6	1297
Damascos	1099,9	1211,6

Olivos	4956,3	6869,5
Manzanas	170	198,5

Fuente: Elaboración propia en base al Censo Nacional Agropecuario 2008.



Figura 2. Distribución porcentual de la superficie cultivada, 2008. Elaboración propia

Fuente: Elaboración propia en base al Censo Nacional Agropecuario 2008.

Si bien los datos anteriores corresponden a los datos oficiales del Censo Nacional Agropecuario del 2008, hay que considerar la cantidad de hectáreas destinadas a hortalizas, ya que para el periodo 2012/2013 se registraron solo 2009 ha, según datos de la DACC (Dirección de Agricultura y Contingencias Climáticas). Del mismo modo, las cuatro especies de hortalizas con mayor superficie muestran valores muy elevados según el censo del 2008, mientras que los datos de la DACC muestran valores menores para el mismo año (tabla 12).

Tomando datos de la DACC para estos cuatro cultivos, vemos que la tendencia entre el 2008-2015 ha sido de un aumento en la superficie destinada a estas especies (tabla 13).

Tabla 12. Superficie destinada a las principales hortalizas en hectáreas, 2008

Hortalizas	Censo 2008	DACC
Ajo	1945,9	437,88
Papa	1006	18,5
Tomate	915,1	96,7
Cebolla	477,3	167,7

Fuente: Elaboración propia en base al Censo Nacional Agropecuario 2008 y datos provenientes de la DACC.

Tabla 13. Superficie destinada a las principales hortalizas en hectáreas, según periodos

Hortalizas	10/11	12/13	14/15
Ajo	449,26	559	534
Papa	63,7	183	171
Tomate	259,8	327	363
Cebolla	232,1	276	218

Fuente: Elaboración propia en base a datos provenientes de la DACC.

Para el periodo 2013/2014, la DACC registró una superficie total cultivada en el departamento de 55.303 ha mientras que para el periodo 2014/2015 hubo un leve descenso hasta 54.849 ha.

Tabla 14. Distribución de cultivos en San Rafael, 2015

Tipo de cultivo	Ha
Frutales	21.273
Vid	16.358
Olivos	8294
Hortalizas	2483
Otros cultivos	6441
Total	54.489

Tabla 15. Frutales y olivos. Evolución de la superficie cultivada en hectáreas

Frutales	2008	2015
Duraznos	3745,6	4878
Ciruelos	9649,2	12.012
Peras	1297	1672
Damascos	1211,6	1251
Olivos	6869,5	8294
Manzanas	198,5	88

Fuente: Elaboración propia en base al Censo Nacional Agropecuario 2008 y datos provenientes de la Dirección de Agricultura y Contingencias Climáticas.

Respecto a frutales y olivos, la superficie implantada aumentó salvo en el caso de la manzana, que disminuyó en un 56%.

Si analizamos entonces la evolución desde la década del 70' en adelante, vemos que efectivamente la superficie implantada disminuyó en cantidad de hectáreas hasta el 2002 y que posteriormente aumentó pero sin lograr alcanzar el valor de 1988 ni mucho menos el de 1969.

Tabla 16. Evolución de la superficie cultivada en San Rafael, en hectáreas

1969	1988	2002	2008	2015
72.574	55.703	50.178	54.987,5	54.489

Fuente: Elaboración propia.

Por otra parte, analizando puntualmente las áreas periurbanas y rurales cercanas a la ciudad de San Rafael, y utilizando el registro de imágenes satelitales de Google Earth para nuestra zona (hasta el año 2003) se pudo tomar algunos ejemplos de cambios muy notorios de uso del suelo agrícola. Fincas de estos sectores fueron loteadas para la construcción de viviendas, barrios cerrados, casas de fin de semana y/o cabañas.

En estas imágenes puede verse como las urbanizaciones han ido ganando terreno a las fincas próximas a la ciudad, generándose estos "parches" en el espacio periurbano/rural. Es importante destacar que las zonas que han registrado un cambio más acelerado hacia un uso residencial del suelo han sido las zonas oeste y noroeste cercanas a la ciudad.

Imagen 1. Cambio uso del suelo en intersección de Las Vírgenes y El Toledano, Las Paredes. 2003



Fuente: Elaboración propia. Google Earth 2017

En cambio, en las parcelas ubicadas al sur y este de la ciudad se percibe en mayor medida un abandono de fincas, con algunos grupos de viviendas que se ubican de manera dispersa.

Imagen 2. Cambio uso del suelo en intersección de Las Vírgenes y El Toledano, Las Paredes. 2017



Fuente: Elaboración propia. Google Earth 2017

Imagen 3. Parcelas con vid en intersección de calle Los Álamos y Av. Alberdi, 2003



Fuente: Elaboración propia. Google Earth 2017

Imagen 4. Parcelas cubiertas con pastizales en intersección de calle Los Álamos y Av. Alberdi, 2017



Fuente: Elaboración propia. Google Earth 2017

4. Conclusiones

En base a los datos expuestos, se puede concluir que los cambios en el uso del suelo agrícola son

consecuencia de hechos económicos y sociales de larga data. En San Rafael, se observa una disminución de la superficie implantada desde la década del 70' al 2000. Sin embargo en los últimos 15 años, la superficie destinada a cultivos ha experimentado un lento aumento con variaciones en los tipos de cultivo más significativos, donde especies como la ciruela, el olivo y el ajo han crecido en superficie mientras que otras como la vid, que fue el cultivo más importante del departamento desde sus inicios, se ha mantenido con ciertas variaciones.

La crisis que sufre el sector agropecuario e industrial desde hace varios años a causa del modelo de desarrollo, ha llevado al abandono de muchas fincas por parte de pequeños y medianos productores. Diversas entidades relacionadas a la agricultura y los mismos productores aducen que este hecho se debe a una multiplicidad de causas, entre las que se pueden mencionar las pérdidas de la producción por las heladas y el granizo, la falta de mano de obra y tecnología, la escasez de agua debido a la crisis hídrica y la falta de obras de infraestructura hidráulica, los precios irrisorios a los que se paga la producción y la falta de incentivos por parte del Estado hacia la agricultura.

Estos hechos también han generado que la agroindustria departamental haya pasado a depender para su subsistencia de las producciones de otras zonas de la provincia, incluso de países limítrofes, y los productos locales que se desarrollan están atados a los vaivenes en los precios para productos de exportación y para industrialización.

El fraccionamiento de las fincas y la especulación inmobiliaria, junto con los nuevos estilos de vida de la población sanrafaelina, han provocado una expansión urbana a tierras rurales o agrícolas. Esto tiene como consecuencia una urbanización descontrolada en terrenos con potencial para el aprovechamiento agropecuario y conlleva a una necesidad de infraestructura para los servicios de agua, luz y gas en lugares alejados del núcleo urbano.

La problemática del uso del recurso hídrico es otra de las consecuencias que se derivan del cambio del uso del suelo agrícola a residencial y se suma a la crisis hídrica que está presente en los últimos años. Principalmente, la modificación en la red de distribución como consecuencia del aumento de las viviendas en estas áreas, ya que en muchos casos las hijuelas quedaron dentro de las propiedades o se taparon para construir cierres perimetrales. También la proliferación de casas de fin de semana en estas zonas ha provocado un aumento de pozos

clandestinos, ya que la mayoría de ellos se utiliza para el llenado de piletas y/o riego de jardines.

Si bien existen ordenanzas municipales de zonificación de las diferentes áreas del departamento, las exigencias de la misma no se cumplen sobre todo en las áreas rurales donde se especifican lotes no menores a 5000 m² cuyos terrenos estén destinados al emplazamiento de usos relacionados con la producción agropecuaria intensiva o extensiva, forestal, mineras y otras.

Estos cambios ocurridos en este tipo de espacios tienen graves consecuencias no solo económicas sino también socioambientales para el departamento. La concentración de la producción agrícola en monocultivos extensivos y el abandono de fincas de pequeños productores que representaban un valor socioproductivo relevante como núcleo familiar y como base de la producción han derivado en un sector productivo frágil y vulnerable a los cambios.

El desarrollo sostenible de San Rafael hoy depende de una amplia discusión sobre las políticas económicas y sociales que contemplen entre otras cuestiones el Ordenamiento Territorial y una matriz productiva que fortalezca el desarrollo local.

5. Referencias

Cantarelli, A. P. (2006). *Avance del frente pionero en San Rafael y conexión ferroviaria con Mendoza en 1903*. Biblioteca Digital UNCuyo: <http://bdigital.uncu.edu.ar/2527>

Cantarelli, A. P. (2013). *Las políticas de promoción del viñedo en San Rafael, Mendoza: 1889-1902*. Mendoza: Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Filosofía y Letras.

Cantarelli, A. P. (2010). *Transformaciones de la vitivinicultura del sur de Mendoza en la década de 1990*. Revista Geográfica Digital IGUNNE (13), Versión digital.

Denis, P. I. (1968). *San Rafael, la ciudad y su región*. Mendoza: Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Filosofía y Letras.

Martínez et al., M. (1973). *Estudio socio-económico departamental de la provincia de Mendoza. Tomo 18 San Rafael*. Mendoza: Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Económicas.

Otta, S. A. (2014). *Lineamientos ambientales para el Ordenamiento Territorial de zonas periurbanas*. San

Rafael, Mendoza. Mendoza: Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias.

Richard Jorba, R. (2000). *Cambios tecnológicos y transformaciones socio-espaciales en la vitivinicultura de la provincia de Mendoza 1870-2000*. Scripta Nova. Revista Electrónica de Geografía y Ciencias Sociales , 69-83.

Roig, A. A., Lacoste, P., & Satlari, M. C. (2004). *Mendoza, economía y cultura*. Mendoza: Cono Sur.

30TCA. Cinética de extracción de saponinas en semillas de Quinoa remojadas (*Chenopodium quinoa* Willd).

Extraction kinetics of saponins from soaked quinoa seed (*Chenopodium quinoa* Willd).

R. Martín Torrez Irigoyen^{1,2}, Sergio A. Giner^{1,2,3}

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

²Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de La Plata.

³Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, Argentina.

E-mail: (martin.torrez67@gmail.com)

Resumen

La Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) tiene un buen perfil de aminoácidos siendo un valioso recurso para una nutrición saludable. El objetivo de este trabajo fue estudiar la cinética de extracción de saponinas durante el lavado de quinoa remojada. Las curvas experimentales de contenido de saponinas en función del tiempo se determinaron a diferentes temperaturas de agua de lavado entre 20 y 70°C durante 70 min de proceso. Un método espectrofotométrico fue propuesto para cuantificar el contenido total de saponinas. La solución analítica de la ecuación de difusión, considerando coeficiente de difusión (D_{eff}) y volumen constante, presentó un buen ajuste a cada temperatura. Los valores del D_{eff} ($\approx 10^{-10}$ m²/s) se correlacionaron con la temperatura mediante una ecuación tipo Arrhenius obteniendo un valor de $E_a=16,9$ kJ/mol. Posteriormente, se propuso un ajuste más robusto, utilizando todo el conjunto de datos experimentales a las diferentes temperaturas. La variación del coeficiente de difusión con la temperatura se consideró a través de la ecuación tipo Arrhenius incluida en el modelo difusivo. El valor obtenido fue de $E_a=17,2$ kJ/mol con un r^2 global de 0,985. El contenido de saponinas predicho mediante este procedimiento se ajustó satisfactoriamente a los datos experimentales.

Palabras clave: Quinoa, Saponinas, Modelo difusivo, Método espectrofotométrico.

Abstract

Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) has a good amino acid profile representing a valuable resource for healthy nutrition. The aim of this work was to study the saponins extraction kinetics during washing of soaked quinoa. The experimental curves of saponins content as a function of time was measured at different water temperatures between 20 and 70°C during 70 min of process. A spectrophotometric method was proposed to determine total saponins content. The complete analytical solution for constant diffusion coefficient using the initial radius provided an accurate prediction at each temperature. An activation energy value (E_a) of 16,9 kJ/mol was obtained. Secondly, a more robust fitting where realized using the whole dataset of saponins concentrations as a function of time for all temperatures. The Arrhenius equation was directly inserted into the diffusional solution. The parameter obtained was $E_a= 17,2$ kJ/mol with an overall $r^2=0,985$. Saponins content agreed well with experimental values.

Keywords: Quinoa, Saponins, Diffusive model, Spectrophotometric method.

1. Introducción

La quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) es una semilla ancestral de la región andina de sud américa. Es considerada un pseudocereal con altos niveles de proteína y un buen balance de aminoácidos esenciales. La fracción lipídica es rica en ácidos grasos como linoleico y α -linolenico (Navruz y Sanlier 2016, Peiretti *et al.*, 2013) los cuales son esenciales, sumado a esto la quinoa contiene una gran cantidad de minerales particularmente calcio, magnesio, potasio, fosforo, manganeso y hierro (Vega-Gálvez *et al.*, 2010). Por otro lado, al no poseer gluten la quinoa es un alimento adecuado para celíacos (Ridout *et al.*, 1991). En este marco, en años recientes, la quinoa ha despertado el interés de la comunidad científica llevando a la FAO a declarar el año 2013 como año internacional de la quinoa (FAO 2013).

Sin embargo, estas semillas contienen saponinas, unos glucósidos triterpénicos concentrados en la cáscara, lo que afecta el gusto (amargor) y la digestibilidad de proteínas, por tanto deben ser eliminadas antes de su consumición (Koziol 1992; Francis *et al.*, 2002). Tradicionalmente, las saponinas se remueven por un proceso de extracción sólido-líquido, realizado de manera cotidiana, mediante un lavado en agua corriente hasta no observar la formación de espuma, punto en el cual se considera que el lavado está completo (Ridout *et al.*, 1991). No obstante, el contenido de saponinas para el consumo humano aun es un tema de discusión en términos de su amargor y efectos biológicos adversos (Chauhan *et al.*, 1992; Quispe-Fuentes *et al.*, 2016). Recientemente, en un artículo publicado por el Codex alimentarius se sugirió un valor de 0,12 % p/p como límite máximo para considerarse apto para el consumo humano, en semillas con un contenido de humedad de 13,5% en base húmeda, (b.s.) lo cual representa un valor de contenido de saponinas límite igual a 0,14% p/p expresados en unidades de base seca (Codex alimentarius 2017).

Con respecto a la metodología para medir la cantidad de saponinas Koziol (1991) desarrolló un método basado en la medida de la altura de la espuma formada al agitar una cierta cantidad de semillas en presencia de agua en un tubo de vidrio. Sin embargo este método depende de la producción y estabilidad de la espuma, la cual depende en parte de la presencia de sales, pH y forma de agitación. Otros autores, como San Martín y Briones (2000) y Quispe-Fuentes *et al.* (2012) utilizaron con éxito la cromatografía líquida de alta performance en fase reversa para cuantificar saponinas. Este es un método práctico para la industria farmacéutica debido a su alta precisión. No obstante, es necesario

un estándar adecuado de saponinas (Ruales y Nair 1993).

Por otro lado, Nickel *et al.* (2016) estudio el efecto de diferentes procesos (lavado, cocción y tostado, etc) en el contenido de saponinas en las semillas de quinoa utilizando para su determinación el método espectrofotométrico con buenos resultados. El principio básico de este método es la reacción de oxidación de los triterpenos con vainillina. Utilizando ácido sulfúrico como agente oxidante generándose un color purpura característico (Hostettmann y Marston 2005). Este método es simple, rápido y poco costoso. Sin embargo, al igual que en los métodos anteriores es preciso contar con un estándar óptimo para realizar la cuantificación (Cheok *et al.*, 2014).

Con respecto al proceso de extracción de saponinas la bibliografía actual es muy escasa. Autores como Ridout *et al.* (1991), Koziol (1991) y Nickel *et al.* (2016) quienes investigaron el efecto de diferentes tratamientos en el contenido de saponinas de quinoa se limitaron a informar los valores iniciales y finales de estos compuestos, después de cada tratamiento estudiado. Quispe-Fuentes *et al.* (2012) desarrolló un modelo difusivo considerando geometría esférica para estudiar la cinética de extracción de saponinas durante el lavado de quinoa obteniendo resultados satisfactorios, utilizando el método cromatográfico para la cuantificación de dichas sustancias. Aunque la información del potencial nutricional de la quinoa ha sido estudiada ampliamente (Koziol 1992; Vega-Galvez *et al.*, 2010; Navruz-Varli y Sanlier 2016) la información referida al proceso de extracción de saponinas es limitada.

Por tanto, el objetivo de este trabajo es estudiar la cinética de extracción de saponinas aplicando la solución analítica de la ecuación de difusión. El contenido de saponinas fue determinado por la técnica espectrofotométrica. El conocimiento del proceso de extracción puede mejorar el conocimiento del mecanismo de eliminación de saponinas y puede ser útil para el diseño de equipos, dado que el modelo difusivo puede utilizarse para estimar los tiempos de extracción para alcanzar niveles seguros de contenido de saponinas para el consumo humano.

2. Materiales y métodos

2.1 Material

Se trabajó con semillas de quinoa variedad CICA provistas por el INTA EEA, Provincia de Tucumán, Argentina. El contenido de humedad inicial de las semillas fue 0,111 kg agua/kg materia seca.

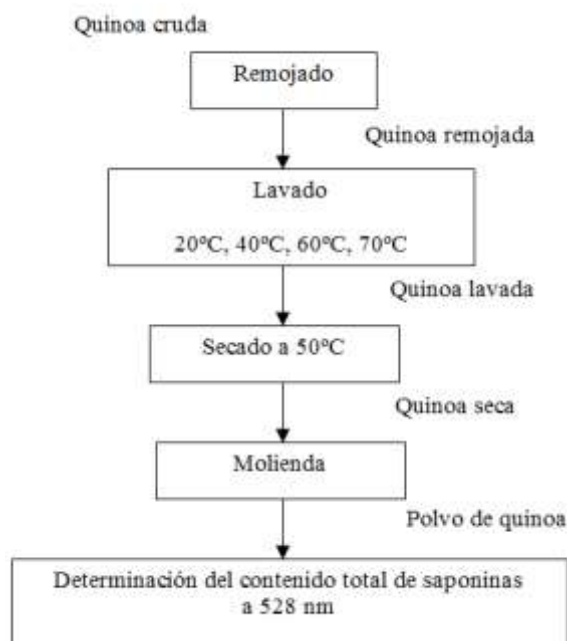


Figura 1. Diagrama de flujo experimental realizado en este trabajo.

2.2 Remojado

Las semillas se inspeccionaron para remover cualquier partícula extraña y luego se remojaron en agua, relación 5:1 agua: semillas, durante 120 min. El contenido de humedad final fue de 0,991 kg agua/kg materia seca.

2.3 Lavado

Las curvas experimentales de contenido total de saponinas en función del tiempo se realizaron a 20, 40, 60 y 70°C en un baño termostático Marca Dalvo (Argentina) con agitación y control de temperatura. Se extrajeron muestras a diferentes tiempos entre 5 y 70 min.

2.4 Secado

Las semillas se secaron en bandejas de acero inoxidable, dispuestas en capa delgada. Se utilizó para este propósito una estufa de convección forzada ($v_a=0.25$ m/s) Marca Sanjor Modelo SL30SDB, Argentina, con una temperatura de 50°C. El contenido final de humedad fue de $0,117 \pm 0,001$ kg agua/kg materia seca.

2.5 Determinación del contenido de humedad

El contenido de humedad se determinó por triplicado por un método AOCS Ac 2-41 para grano entero (130°C por 3h a presión atmosférica) en una estufa de convección forzada (descrita previamente en 2.4).

2.6 Molienda

Las muestras secas se molieron durante 3 min en un molinillo Marca Peabody (Modelo Pe-mc9100, China). El polvo obtenido se tamizo a través de una malla de 0,80 lo que corresponde con un tamaño de partícula de 0,177 mm.

2.7 Determinación del contenido de saponinas por el método espectrofotométrico

Para la extracción de saponinas se pesaron 2,5 g de muestra a continuación se agregaron 25 ml de etanol 50% (v/v) y se dejaron en reposo por 30 min a temperatura ambiente. Los extractos se filtraron a través de papel de filtro (gramaje 80 g/m²) y se llevó nuevamente a 25 ml con etanol 50% (v/v) en un matraz aforado.

Para la reacción se colocó 1 ml de extracto diluido (1:20) con 3,5 ml del reactivo de Liebermann-Buchard (16,7% de anhídrido acético en ácido sulfúrico concentrado). La solución se agitó por unos segundos y se dejó en reposo en oscuridad durante 30 min a temperatura ambiente. La lectura de la absorbancia se realizó a 528 nm en un espectrofotómetro Marca Shimadzu (Modelo 1240, Argentina). La curva de calibración se realizó entre 50-350 µg/ml utilizando un standard de saponinas marca Biopack. Los resultados se expresaron como kg de saponinas 100/kg de materia seca (Giana *et al.*, 2012; Nickel *et al.*, 2016). Todas las lecturas se realizaron al menos 5 veces.

2.8 Modelado matemático de la extracción de saponinas

Considerando el volumen de grano como sistema y el transporte de sólidos (saponinas) por un mecanismo difusivo, el balance microscópico de materia considerando volumen constante puede expresarse de la siguiente forma:

$$\frac{\partial S_I}{\partial t} = \nabla \cdot (D_{eff} \nabla S_I) \quad (1)$$

Donde D_{eff} es el coeficiente de difusión efectivo de saponinas relativo a la materia seca, m²/s. Para flujo radial considerando geometría esférica, la Ec.(1) puede escribirse como:

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

Esta ecuación da el valor local del componente que difunde, S_I kg de saponinas/100 kg de materia seca como función del tiempo t en segundos y la

coordenada radial r en m, cuyos ejes son normales a la superficie y el origen se encuentra en el centro de simetría.

Para resolver la Ec.(2) se plantearon las siguientes condiciones iniciales y de contorno:

Condición inicial

$$t=0 \quad S_l = S_0 \quad 0 \leq r \leq R_0 \quad (3)$$

donde S_0 es el contenido inicial de saponinas y R_0 el radio inicial de la semilla luego de la etapa de remojo previa ($1,652 \times 10^{-3}$ m).

Condición en el centro

$$R = 0 \quad \frac{\partial S_l}{\partial r} = 0 \quad t > 0 \quad (4)$$

Condición en la superficie

$$r = R_0 \quad S_s = S_e \quad t > 0 \quad (5)$$

donde S_s es un valor particular de S_l en la superficie. Durante el lavado la resistencia externa puede considerarse despreciable comparada con la interna, por tanto una condición de contorno preescrita puede utilizarse, esto implica un control interno estricto para la transferencia de materia (Quispe-Fuentes *et al.*, 2012).

2.8.1 Solución analítica de la ecuación de difusión.

La ecuación de difusión para esferas con las condiciones iniciales y de contorno planteadas previamente (Ec. 2 a 5) puede resolverse integrando en todo el volumen de la esfera para calcular un contenido medio de saponinas (S_m) en función del tiempo (Quispe-fuentes *et al.*, 2012)

$$S_d = \frac{S_m - S_e}{S_0 - S_e} = \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp \left[-n^2 \pi^2 \left(\frac{D_{eff} t}{R_0^2} \right) \right] \quad (6)$$

Donde S_d es el contenido adimensional de saponinas, S_e el contenido de saponinas en equilibrio, kg de saponinas/ 100 de materia seca, n número de datos y π el número adimensional. Para implementar el análisis la Ec.(6) se reordeno de la siguiente forma:

$$S_m = S_e + (S_0 - S_e) \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp \left[-n^2 \pi^2 \left(\frac{D_{eff} t}{R_0^2} \right) \right] \quad (7)$$

2.8.2 Dependencia del coeficiente de difusión con la temperatura.

Con el objeto de estimar el efecto de la temperatura en el coeficiente de difusión (D_{eff}) el logaritmo natural de los valores experimentales del D_{eff} se graficaron en función del valor recíproco de la temperatura absoluta del agua mediante una ecuación tipo Arrhenius (Ec.(8))

$$\ln D_{eff} = \ln D_0 - \frac{E_a}{R_g T_k} \quad (8)$$

Donde T_k es la temperatura absoluta del agua en K, D_0 representa el factor pre-exponencial en m^2/s , E_a es la energía de activación en kJ/mol, siendo R_g la constante de los gases $8,314 \times 10^{-3}$ kJ/mol K.

3. Análisis estadístico

Cada determinación del contenido de saponinas se realizó por quintuplicado. Los resultados para las diferentes condiciones fueron comparados mediante el Test de Tukey (Montgomery 1991) con un nivel de confianza del 95%. La bondad del ajuste se evaluó a través de dos índices, en orden de expresar el error en las mismas unidades que la variable ajustada el error cuadrático medio (ECM)

$$ECM = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (y_{pred,i} - y_{exp,i})^2}{N}} \quad (9)$$

Donde $y_{exp,i}$ representa los valores experimentales mientras que $y_{pred,i}$ corresponde a los predichos. El otro parámetro estadístico es el coeficiente de determinación r^2 , el cual se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$r^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^N (y_{exp,i} - y_{pred,i})^2}{\sum_{i=1}^N (y_{exp,i} - y_m)^2} \quad (10)$$

Donde y_m es el valor medio de los datos experimentales.

4. Resultados y discusión

4.1 Curvas de extracción de saponinas

El test de Tukey no encontró diferencias significativas entre los contenidos de saponinas determinados, con un nivel de confianza del 95% en todos los casos. Las curvas experimentales de extracción de saponinas en función del tiempo se presentan en la Figura 2.

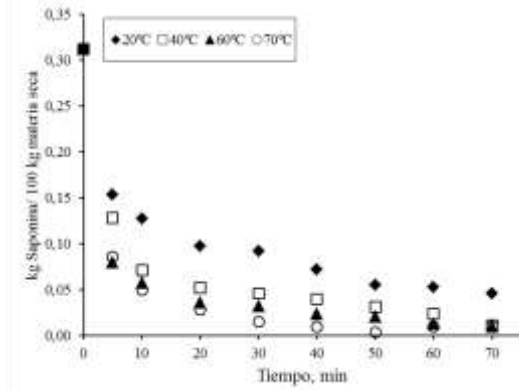


Figura 2. Curvas experimentales de contenido de saponinas en función del tiempo.

El contenido inicial de saponinas determinado por el método espectrofotométrico fue de 0,179 % (p/p) con lo que se corresponde con una variedad de quinoa amarga, contenido de saponinas >0,11% p/p (Nickel *et al.*, 2016). Sin embargo, el valor inicial considerado en este trabajo fue 0,156 % (p/p) luego de la etapa de remojo el cual expresado en base seca es igual a 0,311 %, b.s.

Como puede observarse en la Fig.(2) el contenido de saponinas decrece con el tiempo. Esto sugiere un control interno para la transferencia de materia así como también una aproximación gradual hacia un valor de equilibrio. El contenido de saponinas disminuyó rápidamente durante los primeros 20 minutos de proceso, y más rápido a medida que se incrementó la temperatura del agua de lavado. Quispe-Fuentes *et al.* (2012) informaron valores similares para la extracción de saponinas de quinoa en un rango de temperaturas comparables a las de este trabajo. Al final del tiempo de proceso el contenido de saponinas fue menor al 0,140 % (p/p) propuesto por el Codex alimentarius (2017).

4.2 Ajuste de la solución analítica de la ecuación de difusión

La Tabla 1 presenta los parámetros obtenidos mediante el ajuste de 10 términos de la solución analítica en su forma de serie infinita (Ec.7) a los datos experimentales presentados en la Fig.(2) utilizando un método de ajuste no lineal Quasi-Newton (Systat versión 12, 2007). La Tabla 1 también incluye los índices estadísticos de ajuste. Los valores de r^2 y ECM fueron altamente satisfactorios.

Tabla 1. Coeficiente de difusión de saponinas en quinoa determinados por el ajuste de la Ec.(7) a los datos experimentales.

$T, ^\circ C$	$D_{eff} \times 10^{-10} m^2/s$	r^2	ECM
20	2,848	0,983	0,013
40	4,012	0,978	0,016
60	6,665	0,979	0,014
70	7,538	0,995	0,008

La Fig.(3) muestra un buen ajuste del modelo a los datos experimentales en todos los casos.

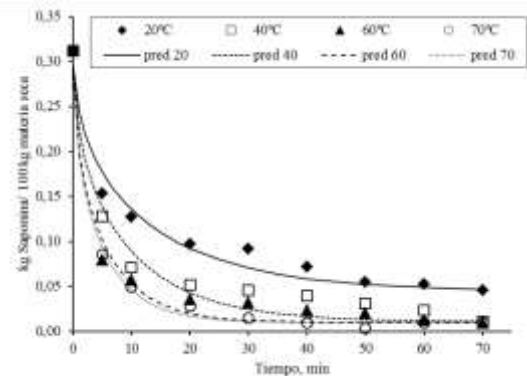


Figura 3. Curvas de extracción de saponinas: valores experimentales (símbolos) y predichos (línea) mediante la solución analítica (Ec.7).

La rápida eliminación de las saponinas de las semillas de quinoa se ve favorecida por la etapa previa de remojo, la cual es recomendada por otros autores con el propósito de favorecer la extracción de dichas sustancias. Además, la presencia de saponinas en la cubierta de la semilla contribuye en cierta manera a que estas sustancias se remuevan fácilmente (Chauhan *et al.*, 1992; Nickel *et al.*, 2016).

Por otro lado, puede observarse en la Fig. 3, que un aumento en la temperatura significó una extracción más rápida de las saponinas. Sin embargo a 60 y 70°C, hacia final del proceso, la apariencia de las semillas se vio alterada, perdiendo parte de su tegumento y germen. Considerando que la quinoa es rica en almidón, 50-66 % p/p (Bojanic 2011). Esto puede explicarse por el hinchamiento de los gránulos de almidón y un fenómeno de gelatinización. Autores como Jan *et al.* (2017) y Li y Zhu (2017) quienes estudiaron las propiedades del almidón en la quinoa consideran que la temperatura de extracción de extracción no debe superar los 50°C. Algunos autores como Mota *et al.*, (2016) sugieren que largos periodos de tiempo en agua caliente pueden contribuir a mayores pérdidas de sustancias solubles como pueden ser minerales y vitaminas.

4.3 Dependencia del coeficiente de difusión con la temperatura.

Una ecuación tipo Arrhenius (Ec.8) fue ajustada a los valores del logaritmo natural de los coeficientes de difusión ($\ln D_{eff}$) como función del valor inverso de la temperatura absoluta del agua ($1/T_k$), es decir, ($1/(T_w+273,15)$). El símbolo T_w representa la temperatura de agua en °C.

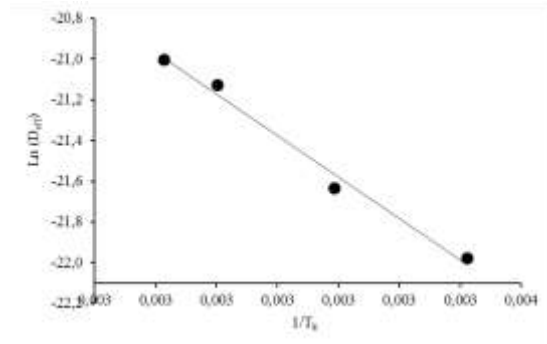


Figura 4. Dependencia de los valores experimentales del coeficiente de difusión con la temperatura (símbolos) versus los valores predichos por la ecuación tipo Arrhenius (línea sólida).

Las predicciones mostradas en la Fig.(4) concuerdan satisfactoriamente con los valores experimentales. De los resultados del ajuste se obtuvo un valor de energía de activación $E_a=16,9$ kJ/mol y un factor pre-exponencial $D_0= 2,875 \times 10^{-7}$ m²/s con un coeficiente de correlación r^2 de 0,987.

La energía de activación para las saponinas fue comparable con valores obtenidos en un rango similar de temperatura por Quispe-Fuentes *et al.* (2012) durante la extracción de saponinas y Ru'an *et al.* (2006) quienes estudiaron la pérdida de flavonoides en vegetales.

4.4 Un método más preciso para calcular la energía de activación del proceso de extracción.

En esta sección un segundo método de ajuste de la solución analítica a todo el conjunto de datos fue propuesto con el fin de obtener un valor de la energía de activación (E_a) que podrá ser estimado con un mayor grado de libertad. Con este propósito la Ec.(7) se reescribió de la siguiente forma:

$$s_m = s_e + (s_0 - s_e) \frac{6}{\pi^2} \dots$$

$$\left(\sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp \left[-n^2 \pi^2 \left(\frac{D_0 \exp \left(\frac{-E_a}{8,314(T_w + 273,15)} \right)}{R_0^2} \right) t \right] \right) \right) \quad (11)$$

De esta manera se obtuvo un valor de energía de activación (E_a) de 17,2 (2,6) kJ/mol y un factor pre-exponencial igual a $3,232 \times 10^{-7}$ ($3,234 \times 10^{-9}$) m²/s junto con un coeficiente de determinación de 0,985 (Systat 12, 2007), el cual es superior al valor medio de los r^2 presentados en la Tabla 1. Los valores presentados entre paréntesis corresponden al error asíntótico estándar de cada parámetro.

La consideración de un mayor grado de libertad en el ajuste permite una determinación más precisa del valor de energía de activación y una estimación más realista del efecto de la temperatura en el proceso. La predicción obtenida por este método con respecto a los datos experimentales fue muy satisfactoria (Figura no mostrada).

5. Conclusiones

En este trabajo se estudió la cinética de extracción de saponinas de semillas quinoa a diferentes temperaturas de lavado en agua, entre 20 y 70°C.

El método espectrofotométrico resultó adecuado para determinar la cantidad total de saponinas. De este estudio, el tratamiento a 40°C por 6 min, puede ser considerado como el tratamiento óptimo para alcanzar un nivel de saponinas seguro para el consumo humano sin ocasionar daños visibles en la semilla.

Un modelo difusivo en estado no estacionario fue propuesto con control interno estricto para la transferencia de masa, asumiendo coeficiente de difusión constante y utilizando el tamaño inicial de la semilla. Los coeficientes de difusión experimentales determinados por este método se correlacionaron con la temperatura mediante una ecuación tipo Arrhenius. Ambos valores, los coeficientes de difusión (alrededor de 10^{-10} m²/s) y la energía de activación (16,9 kJ/mol) se encuentran dentro de los rangos esperados para procesos similares.

Un segundo método de ajuste se desarrolló, en el cual el modelo difusivo se ajustó a todo el conjunto de datos experimentales considerando la dependencia del coeficiente de difusión con la temperatura mediante una ecuación tipo Arrhenius, incluida en el modelo, obteniendo una energía de activación para todo el proceso igual a 17,2 kJ/mol y

un factor pre-exponencial de $3,232 \times 10^{-7} \text{ m}^2/\text{s}$, con un r^2 global de 0,985.

En un trabajo futuro, el modelo desarrollado aquí se combinara con otro que considere la transferencia de agua en la semilla durante el lavado. El modelo combinado de balances de materia (agua y sólidos), será una herramienta útil para el diseño de equipos y contribuirá a predecir los tiempos de extracción en diferentes condiciones operativas.

6. Referencias

Bojanic, A. (2011). La quinua: cultivo milenario para contribuir a la seguridad alimentaria mundial. Oficina Regional para América Latina y el Caribe.

Codex alimentarius. (2017). Norma en estudio N° CL 2017/44-CPL. http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fwww.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FCircular%252520Letters%252FCL%2525202017-81%252Fcl17_81e.pdf

Chauhan, G.S.; Eskin, N.A.M.; Tkachuk, R. (1992). *Nutrients and antinutrients in quinoa seed*. Cereal Chemistry, 69(1), 85-88.

Cheok, C.Y.; Salman, H.A.K.; Sulaiman, R. (2014). *Extraction and quantification of saponins: A review*. Food Research International, 59, 16-40.

Hostettmann, K.; Marston, A. (1995). *Chemistry and pharmacology of natural products*. Saponins. Cambridge University Press, London.

Jan, K. N.; Panesar, P. S.; Rana, J. C.; Singh, S. (2017). *Structural, thermal and rheological properties of starches isolated from Indian quinoa varieties*. International Journal of Biological Macromolecules, 102, 315-322.

Li, G.; Zhu, F. (2017). *Physicochemical properties of quinoa flour as affected by starch interactions*. Food Chemistry, 221, 1560-1568.

Lucas, T.; Le Ray, D.; Mariette, F. (2007). *Kinetics of water absorption and solute leaching during soaking of breakfast cereals*. Journal of Food Engineering, 80, 377-384.

Machado, M. F.; Oliveira, F. A. R.; Cunha, L.M. (1999). *Effect of milk fat and total solids concentration on the kinetics of moisture uptake by ready-to-eat breakfast cereal*. International Journal of Food Science and Technology, 34, 47-57.

Montgomery, D. C., (1991). *Design and analysis of experiments*, third ed. John Wiley & Sons Inc, New York, USA.

Mota, C.; Nascimento, A.C.; Santos, M.; Delgado, I.; Coelho, I.; Rego, A.; Matos, A.S.; Torres, D.; Castanheira, I. (2016). *The effect of cooking methods on the mineral content of quinoa (Chenopodium quinoa), amaranth (Amaranthus sp.) and buckwheat (Fagopyrum esculentum)*. Journal of Food Composition and Analysis, 49, 57-64.

Navruz-Varli, S.; Sanlier, N. (2016). *Nutritional and health benefits of quinoa (Chenopodium quinoa Willd.)*. Journal of Cereal Science, 69, 371- 376.

Nickel, J.; Spanier, L. P.; Botelho, F. T.; Gularte, M. A.; Helbig, E. (2016). *Effect of different types of processing on the total phenolic compound content, antioxidant capacity, and saponin content of Chenopodium quinoa Will grains*. Food Chemistry, 209, 139-143.

Peiretti, P. G.; Gai, F.; Tassone, S. (2013). *Fatty acid profile and nutritive value of quinoa (Chenopodium quinoa Willd.) seeds and plants at different growth stages*. Animal Feed Science and Technology, 183, 56-61.

Ridout, C. L.; Price, K. R.; DuPont, M. S.; Parker, M. L.; Fenwick, G. R. (1991). *Quinoa saponins-Analysis and preliminary investigations into the effects of reduction by processing*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 54, 165-176.

Ruales, J.; Nair, M. B. (1993). *Saponins, phytic acid, tannins and protease inhibitors in quinoa (Chenopodium quinoa, Willd) seeds*. Food Chemistry, 48, 137-143.

Ru'an, C.; Jun, T.; Hong, G.; Fang, H. Min, L.; Cunwen, W.; Yuanxin, W. (2006). *Kinetics of leaching flavonoids from Pueraria Lobatu with ethanol*. Chinese Journal of Chemistry Engineering, 143 (3), 402-406.

San Martín, R.; Briones, R. (2000). *Quality control of comercial quillaja (Quillaja saponaria Molina) extracts by reverse phase HPLC*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 80, 2063-2068.

Quispe-Fuentes, I.; Vega-Gálvez, A.; Miranda, M.; Lemus-Mondaca, R.; Lozano, M.; AH-Hen, K. (2012). *A kinetic approach to saponin extraction during washing of quinoa (Chenopodium quinoa Willd.) seeds*. Journal of Food Process Engineering, 36(2), 1-9.

Koziol, M. J. (1991). *Afrosimetric estimation of threshold saponin concentration for bitterness in Quinoa (Chenopodium quinoa Willd)*. Journal Science Food Agricultural, 54, 211-219.

Koziol, M. J. (1992). *Chemical composition and nutritional evaluation of quinoa (Chenopodium quinoa Willd.)*. Journal of Food Composition and Analysis, 5, 35-68.

Vega-Gálvez, A.; Miranda, M.; Vergara, J.; Uribe, E.; Puente, L.; Martínez, E.A. (2010). *Nutrition facts and functional potential of quinoa (Chenopodium quinoa willd.) an ancient Andean grain: a review*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 90, 2541-2547.

31TCA. Mejora en rendimiento de extracción mecánica de aceite de semilla de Pepita de damasco

Improvement in mechanical extraction performance of apricot kernel seed oil.

Daniel Alfredo Castro¹, Sergio Adrián Sini¹, Heber Noé Possa¹, Alejandro Ernesto Gentile¹, Ernesto Muñoz Puentes¹, Facundo Segundo Alfonso¹, Iván Emanuel Ferrari Galizia¹.

1. Facultad de Ciencias Aplicadas a la Industria. Bernardo de Irigoyen 375. San Rafael. Mendoza dcastro@fcai.uncu.edu.ar

Resumen

El proyecto estudia a escala piloto el proceso de extracción mecánica convencional (EMC) de aceite de pepitas de damasco, evaluando el rendimiento de extracción en función de los parámetros temperatura, presión y estado de la pepita. Se diseñó y construyó un equipo de planta piloto para el desarrollo de las experiencias y la medición de los parámetros operativos, en base a un diseño experimental 2×3^2 . El análisis estadístico se realizó con el software STATGRAPHICS, empleando las superficies de respuestas y análisis ANOVA, generando modelos matemáticos de carácter empírico.

Para el estado de pepita entera un aumento del rendimiento de extracción se produce al aumentar la presión ejercida, como también al aumentar la temperatura de extracción. En el caso de pepita partida se observó un comportamiento similar aunque con una clara disminución en la cantidad extraída de aceite. Se determinó la combinación de parámetros a la cual se logran los mayores rendimientos de extracción (24,01 % v/m), a presión de 37.5 MPa y temperatura de 48 °C. Para valores mayores de presión aplicada, como 50 MPa, se observa una disminución de la extracción tanto para pepita entera como partida.

Palabras clave: extracción mecánica – aceite - rendimiento

Abstract

The present project studies on a pilot scale the conventional mechanical extraction (EMC) process of apricot kernel oil, evaluating the extraction performance according to the parameters temperature, pressure and state of the nugget. A pilot plant equipment was designed and built to develop the experiences and measure the operational parameters, based on an experimental design 2×3^2 . The statistical analysis was carried out with the STATGRAPHICS software, using the ANOVA response and analysis surfaces, generating empirical mathematical models.

For the whole seed state, an increase in the extraction yield occurs when the pressure exerted increases, as well as when the extraction temperature increases. In the case of split seed, a similar behavior was observed although with a clear decrease in the quantity extracted of oil. The combination of parameters to which the highest extraction yields (24.01% v / m), at a pressure of 37.5 MPa and a temperature of 48 °C, was determined. For higher values of applied pressure, such as 50 MPa, a decrease in extraction is observed for both whole and split seeds.

Keywords: mechanical extraction - oil - performance

1. Introducción

Los carozos de frutos regionales, como el Damasco, disponen en su interior de almendras que poseen un contenido de aceite más que interesante. El aceite vegetal contenido en la pepita o almendra puede ser obtenido por procedimientos de extracción adecuados, y posteriormente refinado y purificado según su uso.

En la actualidad se emplean, con cierto éxito, medios mecánicos muy diversos para la extracción de aceite. A nivel industrial está muy difundido el empleo de equipos de extracción por presión mecánica del tipo prensas extrusoras de tornillo, con frecuencia con escaso fundamento teórico en su desarrollo y prestaciones.

Muchos trabajos de investigación hacen hincapié en el empleo de tecnología convencional de extracción mecánica. En ellos se evalúa el rendimiento de extracción en distintas condiciones de temperatura y presión, generando modelos matemáticos tanto de carácter empírico, como otros más rigurosos basados en la naturaleza de la estructura celular (Willems et al., 2008).

Tanto unos como otros emplean las semillas de oleaginosas sin ningún tipo de tratamiento previo a la extracción mecánica del aceite, después de la limpieza y clasificación

Por otro lado también se reporta el empleo de un campo eléctrico pulsado (PEF) aplicado al lecho de semilla que induce un potencial eléctrico crítico a través de la pared celular logrando modificaciones en la estructura celular con incremento de la permeabilidad (Guderjan et al., 2007).

En la extracción mecánica convencional (EMC) intervienen factores propios de la semilla, de diversa naturaleza, tanto de carácter físico-químico como geométricos, en particular su forma característica, que hacen que cuando una muestra se somete a presión mecánica se produzca la extracción de una parte del aceite contenido y la compactación del lecho de semilla causando la disminución de la permeabilidad y de la capacidad de drenaje del aceite, afectando en consecuencia, el rendimiento de extracción. (Voges et al., 2008). Esto fundamenta la necesidad de someter a la semilla a un tratamiento previo a la extracción mecánica con el fin de facilitar la extracción (Mrema & McNulty, 2003).

En este contexto se plantea evaluar el rendimiento de aceite por extracción mecánica convencional (EMC) sometiendo a un lecho de pepitas o almendras de carozo de frutas regionales, sin tratamiento previo, a un esfuerzo mecánico de compresión uniaxial, estableciendo como variables exploratorias o efectos la presión aplicada y la temperatura, y manteniendo constante el tamaño de partícula o granulometría, y registrando el volumen de aceite extraído en serie de tiempo. Más tarde

evaluar la posible mejora de extracción de aceite empleando el tratamiento por micro ondas (MW) como tratamiento previo a la EMC, disponiendo como factores la potencia y el tiempo de exposición a la radiación. Luego someter a las almendras así tratadas por MW a la extracción mecánica convencional EMC en el punto de mayor rendimiento de extracción.

2. Objetivos

Objetivo general

Estudiar en escala piloto el proceso de extracción de aceite vegetal de pepitas de damasco por presión mecánica convencional.

Objetivos específicos:

- Definir los parámetros operativos óptimos para el proceso de extracción y su modelización.
- Determinar propiedades materiales de carácter mecánicas y térmicas, consistentes con el modelo ajustado. Desarrollar un modelo de extracción específico predictivo acorde.
- Analizar, caracterizar y especificar la calidad del aceite obtenido y evaluar las necesidades de refinación y purificación.

3. Materiales y métodos

La empresa Cimafrú, Secadero Ponce, ubicada en el distrito de Real del Padre, San Rafael, proveyó de muestras pepitas de damasco (*Prunus armeniaca*), proveniente de los desechos generados en el proceso de elaboración. Los carozos fueron acondicionados esparciéndolas en el piso y quedando expuestas al sol para disminuir la humedad y el contenido de pulpa residual, y facilitar la obtención de la almendra. Luego se colocaron en envases limpios y se taparon inmediatamente para así evitar la contaminación por cualquier agente externo, conservándose a temperatura ambiente. Posteriormente, se realizó la separación de las pepitas de la parte leñosa o carozo, utilizando un molino de rodillos para el quebrantado y luego la separación final de pepitas y restos de carozo en forma manual. A las muestras así tratadas se las integró en una única muestra que se redujo por una técnica de muestreo por cuarteo, que generó una bolsa de 10 Kg en bruto de pepitas de carozo acondicionadas. Sobre tal muestra inicial se trabajó distinguiendo y separando pepitas enteras de pepitas partidas.



Figura 1. Detalle de pepitas y restos de carozo de damascos.

A los fines de determinar el rendimiento por extracción mecánica convencional EMC se diseñó y construyó un equipamiento cuyo esquema se detalla en la figura 2. El equipo está provisto de una prensa hidráulica (1) con capacidad de carga axial máxima 12Tn y una cámara de extracción (4) de acero inoxidable AISI 316, con diámetro interno de 36.2 mm y 125.0 mm de longitud. Dentro de la misma se desplaza un pistón (2) que transmite el esfuerzo mecánico de compresión al lecho de pepitas, pudiendo alcanzar presiones máximas del orden de 60 MPa. Para cada corrida se alcanza y mantiene la presión en el nivel establecido en el diseño experimental. La parte superior de la cámara de extracción consta de una guía radial (3) para asegurar el esfuerzo vertical axial y evitar desplazamientos laterales. En la parte inferior la cámara descansa sobre un plato perforado que permite el egreso del aceite extraído, y el montaje de una sonda termopar tipo K (7) para la medición de la temperatura, ubicada en el radio medio de la torta de extracción. Se fija y mantiene la temperatura de la



Figura 2.a Equipamiento empleado para la extracción mecánica convencional

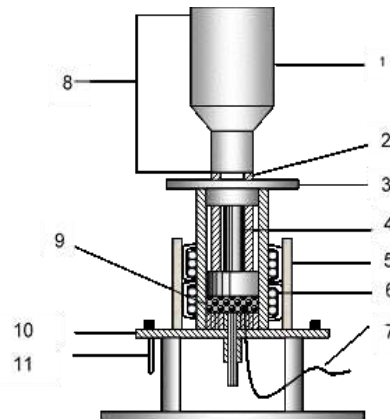


Figura 2.b Equipamiento empleado para la extracción mecánica convencional

Para la determinación de los parámetros operativos y el diseño experimental se discutieron las variables que a criterio del equipo de trabajo son de importancia en la extracción mecánica.

Inicialmente se estableció un diseño experimental factorial 3^2 que incluyó como variables independientes la presión y la temperatura de extracción, ambas en tres niveles, en tanto que la humedad de la semilla se mantuvo en un valor de $5 \pm 1.0\%$. Se estableció como variable dependiente el rendimiento de extracción expresado como el volumen de aceite extraído en relación a la masa de semillas empleada y corregido a 100 gramos de muestra, $\%(\text{vol}/\text{masa})$.

Además se postuló como hipótesis que tal rendimiento de extracción estaría influenciado por la granulometría de la pepita, posterior a las operaciones de limpieza y acondicionamiento previo a la extracción mecánica. Se adicionó entonces al diseño inicial, la variable Estado en sus dos niveles “entera” y “partida”. Por ello se amplió el diseño factorial inicial a un nuevo diseño 2×3^2 que más tarde se redujo a un diseño sedimentado y reducido a 12 corridas. El diseño experimental se resume en la tabla 1.

Tabla 1. Diseño experimental para extracción mecánica convencional Técnica Control

		Nivel		
Variables	Independientes	C: Estado	-1	Entera
			1	Partida
	A: Presión [Mpa]	-1	25.0	
		0	37.5	
		1	50.0	
	B: Temperatura	-1	18.0	
0		33.0		

		[°C]	1	48.0
	Parámetro	X: humedad	De eq. ambiente	
	Depen- dientes	Rendimiento %	A Evaluar	
		Eficiencia %	A Evaluar	

Tanto para la técnica control como para los tratamientos previos la evaluación del rendimiento de extracción de aceite se analizó a través del empleo de herramientas de inferencia estadística, como regresión, análisis de varianza (ANOVA) y metodología de superficie de respuesta, para obtener la relación entre variables independientes y dependiente, evaluar posibles interacciones de segundo orden y obtener un modelo predictivo de rendimiento de extracción. Para todos los casos de análisis estadístico se empleó el software STATGRAPHICS 5.1 Plus for Windows de Manugistics.

4. Resultados y Discusión

Extracción mecánica sin tratamientos previos.
Extracción mecánica convencional (EMC)

Los resultados del desarrollo de la matriz de diseño experimental se resumen en la tabla 2. El rendimiento de aceite de cada corrida, estandarizado a 25 °C y expresado en ml por cada 100 gramos de muestra es el resultado de promediar tres réplicas del volumen de aceite extraído. Por su parte la eficiencia de extracción se calcula como el cociente entre el aceite extraído y la máxima cantidad de aceite presente, determinada por análisis químico composicional.

Tabla 2. Rendimientos y eficiencias de extracción según diseño experimental (EMC)

Nº	Estado	P [MPa]	T [°C]	Rendimiento %	Eficiencia %
1	Entera	25,0	18	10,76±0,55	22,10
2	Entera	37,5	18	19,81±0,65	40,26
3	Partida	50,0	18	13,48±0,66	27,40
4	Partida	25,0	33	11,05±0,70	22,46
5	Partida	50,0	33	15,05±0,22	30,59
6	Entera	25,0	48	17,90±0,38	36,38
7	Entera	37,5	48	24,01±0,38	48,80
8	Partida	50,0	48	10,24±0,36	20,81
9	Entera	50,0	48	18,55±0,48	37,70
10	Partida	25,0	18	8,10±0,43	16,46
11	Partida	37,5	48	11,01±0,52	22,38
12	Partida	37,5	18	13,00±0,65	26,43
13	Partida	25,0	48	9,19±0,68	18,68
14	Entera	50,0	18	21,03±0,56	42,74
15	Entera	25,0	33	18,67±0,49	37,95
16	Entera	37,5	33	20,29±0,58	41,24
17	Entera	50,0	33	22,95±0,38	46,64

18	Partida	37,5	33	14,57±0,58	29,61
----	---------	------	----	------------	-------

En la tabla 2 se observa que el máximo rendimiento de aceite del 24,01 (v/m) corresponde a 37,5 MPa y 48 °C de presión y temperatura, respectivamente y a pepita Entera. Por su parte el mínimo de 8,10% se obtuvo a 25,0 MPa de presión, 18 °C de temperatura y a pepita partida.

La figura 3 muestra la superficie de respuesta generada, que vincula el rendimiento de extracción con la presión y la temperatura de extracción, establecida para la condición o estado de pepita entera. Tal superficie de respuesta pronostica que se puede conseguir un aumento del rendimiento de extracción tanto con el aumento de la presión ejercida como con el aumento de la temperatura de extracción. Sin embargo, se observa que para valores de presión comprendidos entre el nivel central (37.5 MPa) y el nivel superior (50 MPa) se encuentran los mejores rendimientos de extracción. Con relación a la temperatura, la extracción aumenta convenientemente con el aumento de la misma.

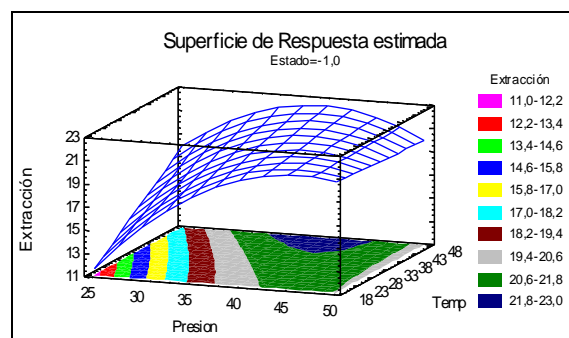


Figura 3. Superficie de respuesta de Rendimiento en función del estado de pepita entera, la presión y la temperatura.

La temperatura máxima, está limitada por razones vinculadas a la calidad del aceite extraído. En efecto, temperaturas del orden de los 50 °C y superiores inducen reacciones de deterioro que afectan los atributos de calidad del aceite (Willems et al., 2008; Bailey, 2006). También para muchas semillas oleaginosas el aumento de la presión mecánica aplicada afecta la calidad del aceite extraído. Además, mayores presiones de compresión se traducen en mayores consumos de energía mecánica específica (Singh et al., 2000). Por otra parte y en el contexto del presente trabajo el sistema mecánico hidráulico empleado a nivel experimental no permitió una operación segura por encima de los 50 MPa (límite superior de exploración).

La figura 4 muestra los contornos de la superficie de respuesta estimada, que vincula el rendimiento de extracción con la presión y la temperatura de extracción, establecida para la condición o estado de

pepita partida. Se observa un comportamiento similar aunque con una clara disminución en la cantidad extraída de aceite.

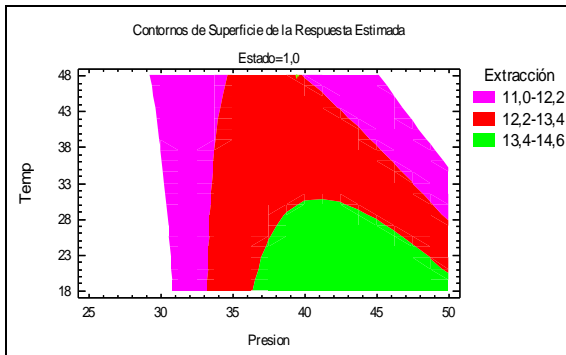


Figura 4. Contornos de Superficie de respuesta para Rendimiento en función del estado pepita partida, la presión y la temperatura de compresión por EMC

Tal contorno de respuesta pronostica que se puede conseguir un aumento del rendimiento de extracción con el aumento de la presión ejercida. Sin embargo, se observa que para valores de presión comprendidos entre el nivel central (37.5 MPa) y el nivel superior (50 MPa) se encuentran los mejores rendimientos de extracción. Con relación a la temperatura, la extracción aumenta con la disminución de la misma. La respuesta optimizada según el modelo estadístico hallado predice la mayor extracción como valor óptimo de 22.42 ml aplicando una presión de 39.4 MPa, 48 °C de temperatura, empleando la pepita entera.

Análisis de Efectos y su significación estadística

Con respecto a los efectos que resultan con significancia estadística, la figura 5 muestra el gráfico de Pareto de los efectos estandarizados para el rendimiento de aceite. La línea vertical separa los efectos estadísticamente significativos de los que no lo son. Se observa que sólo resultan significativos con un nivel de confianza del 95% los efectos puros A: Presión, C: Estado, y las interacciones AA y AB. No resulta estadísticamente significativa el efecto puro B: Temperatura.

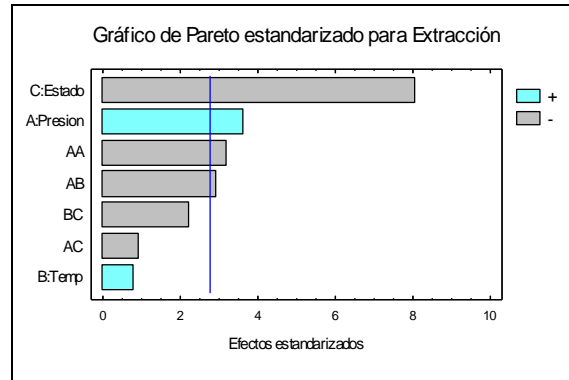


Figura 5. Diagrama de Pareto estandarizado para Extracción.

En el análisis de varianza (ANOVA) se observa que dos efectos puros (C: Estado y A: Presión), y su interacción (P^2) tienen el p-valor inferior a 0,05, indicando que son estadísticamente significativos al 95,0% de nivel de confianza, mientras que no cumplen con esta premisa un efecto puro (B: Temperatura) y las demás interacciones de segundo orden. Por su parte, el estadístico R-cuadrado indica que el modelo así ajustado explica el 96,3% de la variabilidad en Extracción. Si se excluyen las interacciones AB, BC y AC, el nuevo modelo de regresión ajustado a los datos observados se puede escribir como:

$$Ex = -31,5904 + 2,0626 * P + 0,374861 * T + 0,147083 * E - 0,021096 * P^2$$

Donde:

Ex: Extracción (ml/100 gramos);

P: presión de extracción (MPa), rango de experimentación [25-50 MPa];

T: temperatura de extracción (°C), rango de experimentación [18-33 °C].

E: estado de pepita [Entera, Partida].

Al excluir tales interacciones, el nuevo valor del estadístico R-cuadrado indica que el modelo así ajustado explica el 98,36 % de la variabilidad en Rendimiento, con lo cual no se modifica en gran medida con respecto al modelo original.

La figura 6 muestra la variación de la extracción porcentual comparando para nueve corridas la influencia simultánea que la presión y temperatura obran sobre ella. En las corridas 1, 2 y 3 se mantiene la temperatura de extracción en su nivel inferior de 18 °C y se escala la presión desde el nivel inferior de 25 MPa, hasta el superior de 50 MPa, pasando por el valor central de 37,5 MPa. Este análisis es válido para los otros niveles de temperatura, central de 33°C (corridas 4, 5 y 6), y para nivel superior de 48 °C (corridas 7, 8 y 9). Se observan así dos curvas que corresponden a la extracción para la pepita entera y para la pepita partida.

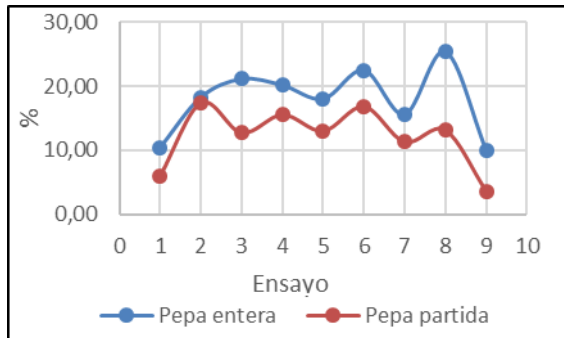


Figura 6. Influencia del estado de la pepita sobre el rendimiento de extracción.

De ella se deduce que cuando la extracción mecánica prospera a temperatura cercana a la temperatura ambiente no se observan cambios importantes sobre el rendimiento de extracción. Sin embargo, la extracción es significativamente influida por la presión aplicada. El máximo de extracción se da para el nivel intermedio de la presión, 37.5 MPa y temperatura máxima de 48 °C. Para valores mayores de presión aplicada, como 50 MPa, se observa una disminución de la extracción tanto para pepita entera como partida. Este comportamiento podría explicarse ya que a valores elevados de presión las propiedades materiales juegan un rol significativo en la extracción de aceite. Así es posible que el coeficiente de consolidación mecánica se imponga en algunos órdenes de magnitud al coeficiente de permeabilidad, lo que dificulte la extracción. (Bargale et al., 1999, y 2000).

5. Conclusiones

Se considera que el primer objetivo específico planteado se ha desarrollado un 90 %, obteniendo un modelo estadístico adecuado para la predicción del rendimiento de extracción, en base a los efectos principales y sus interacciones.

Los parámetros que resultan significativos para la extracción mecánica convencional de aceite por compresión uniaxial de un lecho de pepitas de damasco son el estado material con que se presenta (entera o partida) y la presión aplicada.

El máximo de extracción se da para el nivel intermedio de la presión, 37.5 MPa y temperatura máxima de 48 °C. Para valores mayores de presión aplicada, como 50 MPa, se observa una disminución de la extracción tanto para pepita entera como partida.

En el caso de pepita partida se observó un comportamiento similar aunque con una clara disminución en la cantidad extraída de aceite.

La forma genérica de las pepitas enteras ocasiona una distribución geométrica no uniforme en el lecho bajo compresión axial, que explicaría parte del

comportamiento observado durante las corridas experimentales de extracción.

Con respecto al contenido de grasas totales, según AOC 920.398, la pepita de damasco estudiada alcanzó un valor de 45.3 gr e aceite por cada 100 gramos de pepitas, que a densidad de 0.921, corresponde a 49.2 ml de aceite extraído.

6. Referencias

- Bargale, P.C., Wulfsohn, D., Irudayaraj, J., Ford, R., Sosulski, F., Prediction of Oil Expression by Uniaxial Compression using Time-varying Oilseed Properties. *J. agric. Engng Res.* 77 171-181 (2000).
- Bargale, P.C.; Ford, R.J.; Wulfsohn, J.: Measurement of Consolidation and Permeability Properties of Extruded Soy under Mechanical Pressing. *J. agric. Engineering Res.* 74 (1999) 155-165.
- Bargale, P.C.; Sosulski, K.; Sosulski, F.: Enzymatic hydrolysis of soybean for solvent and mechanical oil extraction. *Journal of Food Process Engineering.* 23 321-327 (2000).
- Bargale, P.C.: Mechanical Oil Expression from Selected Oilseeds under Uniaxial Compression. Tesis Doctoral. Saskatoon, Saskatchewan, Canadá, 1997.
- Castro, D. Evaluación de métodos alternativos para la mejora en rendimiento de la extracción mecánica de aceite de semillas de colza. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias. (2013).
- Castro, D.; Membrives, F.; Balanza, M.; Ordoñez, A.; Castro, M.; Gentile, A. Evaluación experimental preliminar de rendimiento de extracción de aceite de semillas de colza por extracción mecánica convencional. *EnIDI 2009. Resúmenes ISBN 978-950-42-0121-2.* (2009).
- Castro, D.; Membrives, F.; Balanza, M.; Ordoñez, A.; Castro, M.; Gentile, A. Evaluación experimental preliminar del pre-tratamiento con microondas en el rendimiento de extracción de aceite de semillas de colza. *EnIDI 2011. Resúmenes ISBN 978-950-42-0134-2.* (2011).
- Dominguez, H.; Sineiro, J.; Núñez, M.J.; Lema, J.M.: Enzymatic treatment of sunflower kernels before oil extraction. *Food Research International.* 28 537-545 (1996)
- Guderjan, M., Elez-Martinez, P., Knorr, D., Application of pulsed electric fields at oil yield and content of functional food ingredients at the production of rapeseed oil. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8 55-62. (2007).

Guerra, E.G.; Zúñiga, M.E.: Tratamiento enzimático en la extracción de aceite de pipa de uva, *Vitis vinifera*, por prensado en frío. *Grasas y Aceites* Vol. 54 Fasc. 1 53-57. (2003).

Mrema G.C.; McNulty P.B. Mathematical model of mechanical oil expression from oilseeds. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 31 (5), 361 – 370. (1985).

Singh, J., Bargale, P.C.: Development of a small capacity double stage compression screw press for oil expression. *Journal of Food Engineering* 43, 75-82. (2000).

Sineiro, J.; Dominguez, H.; Núñez, M.J.: Influencia del tratamiento enzimático en la calidad de aceites vegetales. *Grasas y Aceites*. Vol. 49 Fasc. 2 191-202 (1998).

Sineiro, J.; Dominguez, H.; Núñez, M.J.; Lema, J.M.: Microstructural Features of Enzymatically Treated Oilseeds. *Journal Science Food Agric*. 78 491-497 (1998).

Soto, C., Chamy, R., Zúñiga, M., Enzymatic hydrolysis and pressing conditions effect on borage oil extraction by cold pressing. *Food Chemistry*, 102 834-840 (2007).

Uquiche, E., Jeréz, M., Ortíz, J.: Effect of pretreatment with microwaves on mechanical extraccion yield and quality of vegetable oil from Chilean hazelnuts (*Gevuina avellana Mol*), *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, (2008), doi:10.1016/j.ifset.2008.05.004

Venter, M.J., Kuipers, N.J., De Haan, A., Modelling and experimental evaluation of high-pressure expression of cocoa nibs. *Journal of Food Engineering*, 80 1157-1170 (2007).

Venter, M.J., Hink, R., Kuipers, N.J., De Haan, A.B., The influence of process parameters on Gas Assisted Mechanical Expression (GAME) of cocoa nibs. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8 172-179. (2007).

Voges, S., Eggers, R., Pietsch, A., Gas assisted oilseed pressing. *Separation and Purification Technology* (2008), doi:10.1016/j.seppur.2008.03.039

Willems, P.; Kuipers, N.J.; De Hann, A.B.: A consolidation based extruder model to explore GAME process configurations. *Journal of Food Engineering* 90, 238-245 (2009).

Willems, P.; Kuipers, N.J.; De Hann, A.B.: Hydraulic pressing of oilseeds: Experimental determination and modeling of yield and pressing rates. *Journal of Food Engineering* 89, 8-16. (2008).

Zuñiga, M.E.; Soto, C.; Mora, A.; Chamy, R.; Lema, J.L.: Enzymic pre-treatment of *Guevina avellana mol* oil extraction by pressing. *Process Biochemistry* 39, 51-57 (2003).

32TCA. Efecto de las condiciones de procesamiento en la concentración de bioactivos y la actividad antioxidante de arazá (*Eugenia stipitata*) osmo-deshidratada

Effect of the processing conditions on the bioactive content and antioxidant activity of osmo-dehydrated araza (*Eugenia stipitata*)

Camilo Andrés Reyes¹, Juliana Gamboa-Santos¹, Jonh Jairo Mendez², Maria Cecilia Lanari¹.

1 CIDCA, UNLP, Buenos Aires. Argentina 2 UT, Facultad de Ciencias, GIPRONUT. Ibagué, Tolima. Colombia. e-mail: chaca0926@gmail.com

Resumen

El objetivo de este trabajo fue optimizar las condiciones de proceso (temperatura,(T); tiempo de residencia,(t); concentración soluto deshidratante, (C)) para la deshidratación osmótica (DO) de arazá mediante la metodología de superficie de respuesta, maximizando las concentraciones de bioactivos (polifenoles, flavonoides, carotenoides, ácido ascórbico) y la actividad antioxidante para obtener un producto con óptimos niveles de calidad nutricional. La relación entre los indicadores físico-químicos y nutricionales y las condiciones de procesamiento (temperatura 20-40 °C, tiempo de residencia 60-180 min, concentración de solutos 20-60 °Brix (Bx)) en las porciones de fruta analizadas se determinaron mediante la metodología de superficie de respuesta múltiple a partir de un diseño experimental Box-Behnken. Las variables respuesta se maximizaron para obtener una función de conveniencia que optimizara el proceso en función de la calidad nutricional. Las condiciones de tratamiento de DO que dieron lugar a los valores óptimos de los indicadores analizados fueron: 34,16 °C, 20 °Bx, y 60 min, con una deseabilidad de 0,94 lo cual garantiza niveles fisicoquímicos y nutricionales elevados en el arazá osmo-deshidratado.

Palabras clave: arazá; deshidratación osmótica; optimización; función de conveniencia

Abstract

The objective of this work was to optimize the process conditions (temperature(T); residence time (t); solute content (C)) for the osmotic dehydration (DO) of araza to obtain a product with high nutritional quality. The relationship between the bioactive (polyphenols, flavonoids, carotenoids, ascorbic acid) contents or the antioxidant activity and the processing conditions (temperature 20-40 °C, residence time 60-180 min, solutes concentration 20-60 °Brix (Bx)) was determined in fruit pieces by multiple response surface with a Box-Behnken experimental design. The response variables were maximized to obtain a convenience function that optimized the process according to the nutritional indicators. The optimal processing conditions were: 34.16 °C, 20 °Bx, and 60 min, with a desirability value of 0.94, which guarantees high physicochemical and nutritional levels in osmo-dehydrated araza.

Keywords: araza; osmotic dehydration; optimization; convenience function

1. Introducción

El arazá (*Eugenia stipitata*; ES) es una fruta tropical de la zona amazónica de Brasil y Colombia muy apreciada por su color amarillo intenso, características sensoriales exóticas y altos niveles de jugosidad. Esta fruta tiene alto contenido de antioxidantes fenólicos, carotenoides y vitamina C que le otorgan propiedades antioxidantes, antimutagénicas y antígenotóxicas. Actualmente se consume fresco o en jugos, ya que su fragilidad y corta vida útil limitan sus posibilidades de comercialización. Para solucionar este problema deben utilizarse técnicas de preservación que permitan aumentar su vida útil sin deteriorar sus propiedades sensoriales y nutricionales como la

deshidratación osmótica (DO). Este método proporciona una remoción parcial del agua en el alimento mediante un tratamiento térmico suave que favorecería la preservación de bioactivos termosensibles.

Ciurzynska *et al.*, (2016) informaron que las condiciones de operación (tiempo de residencia, t; temperatura, T; concentración del agente deshidratante, C) tienen un papel fundamental en la concentración de nutrientes, por consiguiente, la aplicación exitosa de esta metodología al arazá requiere un conocimiento detallado de la influencia de dichos parámetros en la concentración de antioxidantes presentes y en su actividad.

En este contexto el objetivo de este trabajo fue optimizar las condiciones de proceso (T, t, C) para la DO de arazá mediante la metodología de superficie de respuesta (MSR) y la función de deseabilidad, maximizando las concentraciones de polifenoles, flavonoides, carotenoides, ácido ascórbico y la actividad antioxidante para obtener un producto con calidad nutricional óptima.

2. Materiales y métodos

2.1 Selección de la fruta y deshidratación osmótica (DO)

Los frutos de arazá frescos y lavados (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh) se pelaron y cortaron a lo largo de su eje longitudinal en segmentos de 2 cm de espesor.

Las porciones de fruta se deshidrataron con soluciones de sacarosa comercial (Ledema, Jujuy, Argentina; 20, 40 y 60 °Bx) en una relación muestra/solución 1:10 (p/p) en un agitador termostático (FERCA Modelo TT 400, Argentina) con agitación constante (100 ciclos/min) durante 60, 120 y 180 min a 20, 30 y 40 °C. Posteriormente, las muestras se secaron con papel absorbente en condiciones estandarizadas y se pesaron. La ganancia de sólidos solubles (SG, %), la reducción de peso (WR, %) y la pérdida de agua (WL, %) para las combinaciones de tiempo, temperatura y concentración de sacarosa se determinaron con las Ecs. (1-3).

$$WR_t = \frac{(m_0 - m_t)}{m_0} * 100 \quad (1)$$

$$WL_t = WC_0 - WC_t * \left(1 - \frac{WR_t}{100}\right) \quad (2)$$

$$SG_t = TS_0 * \left(1 - \frac{WR_t}{100}\right) - TS_0 \quad (3)$$

Donde m es la masa de muestra (g), WC es el contenido de humedad (g/g, %) y TS es el contenido de sólidos totales (g/g, %) para los tiempos 0 y t.

2.2 Caracterización de las muestras

La humedad de las muestras frescas y osmo-deshidratadas se determinó gravimétricamente a 70 °C (AOAC, 2002). El contenido de sólidos solubles se analizó a 25 °C por refractometría (Hanna Instruments HI96801, USA).

2.3 Extracción de antioxidantes

La extracción de antioxidantes lipofílicos e hidrofílicos se realizó de acuerdo con la metodología descripta por Saura-Calixto *et al.*, 2007.

Se extrajeron 5 g de la muestra con 20 ml de solución metanol/agua (50:50, v/v; pH 2; E1) con agitación constante durante 60 min, posteriormente se centrifugó a 2500 g por 10 min. El residuo resultante se extrajo con 20 ml de acetona/agua (70:30, v/v; E2) en las mismas condiciones descritas previamente. La capacidad antioxidante y la concentración de bioactivos se analizaron en una alícuota de la solución resultante de combinar E1 y E2.

2.3.1 Concentración de compuestos bioactivos

2.3.1.1 Polifenoles totales (PT)

La concentración de polifenoles totales se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteu (Schlesier *et al.*, 2002). Se combinaron 0,2 ml del extracto líquido de arazá con 2 ml de Na_2CO_3 al 2% (p/v) y 0,2 ml de reactivo Folin-Ciocalteu (1:1) (Sigma-Aldrich, Buenos Aires, Argentina). Luego de 30 min se midió la absorbancia a 725 nm, en un espectrofotómetro Shimadzu UV-VIS (Seisakusho Ltd., Kyoto, Japón).

Los PT se expresaron como mg de ácido gálico equivalente (EAG)/gramos de materia seca (g.m.s) por medio de una curva de calibración (0,05-0,3 mg ac. gálico/ml).

2.3.1.2 Flavonoides Totales (FT)

Se determinaron mediante el método de Chang *et al.* (2002). Se mezclaron 300 μl del extracto con 1500 μl de agua destilada, 90 μL de NaNO_2 al 5% y, luego de 6 min se añadieron 180 μl de AlCl_3 al 10%. Luego de 5 min se agregaron 600 μl de NaOH 1M y finalmente, el blanco y las muestras se completaron con 330 μl de agua destilada. La absorbancia se midió a 510 nm después de 30 min de reacción. Los resultados se expresaron en mg de catequina (CAT)/g.m.s

2.3.1.3 Carotenoides totales (CT)

Se extrajeron 2,5 g de muestra con 5 ml de hexano: acetona: etanol (2: 1: 1), luego de 2 min de agitación se agregaron 2 ml de agua destilada para lograr la separación de fases. La absorbancia del sobrenadante se midió a 454 nm. El contenido de carotenoides se expresó como mg β -caroteno/g m.s usando el coeficiente de extinción molar $\epsilon_{\beta\text{-caroteno}} = 1.39 * 10^5 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Ordoñez-Santos *et al.*, 2014).

2.3.1.4 Ácido Ascórbico (AA)

Se extrajeron 2,5 g de muestra con ácido metafosfórico (HPO₃; 50 g L⁻¹; Carlo Erba SA, BCN, España). Luego los extractos se centrifugaron a 2000 g/5 min (Rolco CM 2036, Buenos Aires, Argentina).

La concentración de AA se determinó en el sobrenadante mediante HPLC (Waters, modelo R-414, Milford, 152 MA, EE. UU.). El método consiste en una elución isocrática con un detector UV-Visible (λ; 245 nm), utilizando AA (grado alimentario, Parafarm) como estándar externo. Antes de inyectar la muestra, los extractos se filtraron con papel de filtro de membranas miliporo de 0,45 μm.

La separación se realizó mediante una columna RP C18 (Symmetry, Waters, Dublín, Irlanda) a 25 ° C. La fase móvil fue una mezcla de 5 g L⁻¹ HPO₃ y CH₃CN (acetonitrilo) 93:7 (Novakova *et al.*, 2008), con un caudal de 1 ml/min⁻¹. La curva de calibración se determinó para un rango de concentraciones de 0,5-200 mg L⁻¹.

2.3.2 Actividad antioxidante

2.3.2.1 Capacidad de secuestro del radical DPPH• (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)

La capacidad de secuestro del radical DPPH • se determinó con el método de Brand Williams *et al.* (1995) utilizando etanol como solvente. Se mezclaron 100 μl de extracto con 3,9 ml de la solución DPPH. La disminución de la absorbancia a 517 nm se monitoreó espectrofotométricamente hasta alcanzar estado estacionario (80 min).

La actividad antioxidante (AOA) se calculó como porcentaje de inhibición mediante la siguiente ecuación.

$$AOA(\%) = \frac{(DPPH_i - DPPH_t)}{DPPH_t} \times 100 \quad (4)$$

2.4. Diseño experimental y análisis estadístico

La influencia de la temperatura (T), el tiempo de residencia (t) y la concentración de la solución osmótica (C) en la concentración de compuestos bioactivos y la actividad antioxidante del producto obtenido se analizó a partir de un diseño experimental Box-Behnken (Statgraphic 5.0, Statistical Graphics Corporation, Rockville, MD, EE.UU; **Tabla 1**).

Tabla 1. Condiciones experimentales para la optimización de la deshidratación osmótica de los frutos de arazá.

Ensayo	Tiempo (min)	Temperatura (°C)	Concentración (°Bx)
A1	60	20	40
A2	120	20	60
A3	180	40	40
A4	120	30	40
A5	60	40	40
A6	60	30	60
A7	120	40	60
A8	120	30	40
A9	120	40	20
A10	180	30	20
A11	120	30	40
A12	120	20	20
A13	180	30	60
A14	60	30	20
A15	180	20	40

La relación entre las distintas variables dependientes (Y; PT, FT, CT, AA, DPPH) y las condiciones de operación se modeló con un polinomio de segundo orden (Ec. 5; Software Statgraphics).

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \varepsilon \quad (5)$$

X₁ = T; X₂ = t; X₃ = C. β₀ = constante; β_i y β_{ij} = coeficiente de regresión de los efectos principales “i”, “j” y de las interacciones respectivamente;

Para realizar una optimización del proceso en su conjunto, los modelos con un coeficiente R²adj > 69% se sometieron a una optimización simultánea de todas las variables de respuesta, dando como resultado una superficie de respuesta múltiple, siguiendo la metodología descrita por Granato *et al.* (2010).

3. Resultados y Discusión

3.1 Concentración de bioactivos

Las muestras expuestas a las distintas condiciones de t, T y C presentaron valores WL/SG (perdida de agua/ganancia de solutos) entre 1,61-3,29 g.

Tabla 2. Efecto de las variables de proceso (t, T, C) en el contenido de compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante del arazá

Tratamiento (t / T / C)	Polifenoles (PT)	Flavonoides (FT)	Carotenoides (CT)	Ácido ascórbico (AA)	DPPH
Control	31,04±0,63 ^e	16,02±0,33 ^e	68,56±1,01 ^e	495,01±56,96 ^c	80,17±2,01 ^f
A1 60/20/40	25,02±1,01 ^{cd}	11,44±0,22 ^{cde}	53,81±0,47 ^{bcd}	283,26±21,36 ^b	77,92±0,57 ^f
A2 120/20/60	17,45±0,92 ^a	7,13±0,06 ^{abc}	47,41±2,13 ^{abcd}	92,54±13,36 ^a	61,98±3,46 ^{de}
A3 180/40/40	15,35±0,16 ^a	4,51±0,17 ^a	33,02±1,11 ^a	42,53±0,17 ^a	34,59±0,17 ^a
A4 120/30/40	19,94±1,27 ^{ab}	10,99±0,73 ^{bcd}	58,27±1,42 ^{cde}	40,63±8,43 ^a	54,27±0,72 ^{cd}
A5 60/40/40	26,82±1,19 ^{de}	10,58±0,11 ^{bcd}	60,64±7,83 ^{cde}	228,59±19,19 ^b	66,34±2,11 ^e
A6 60/30/60	29,06±0,76 ^{de}	12,79±0,44 ^{de}	56,76±6,01 ^{bcd}	286,67±13,39 ^b	63,07±0,19 ^{de}
A7 120/40/60	22,17±0,61 ^{bc}	6,31±0,11 ^{abc}	38,99±1,42 ^{ab}	44,79±14,28 ^a	52,65±1,83 ^c
A8 120/30/40	20,15±0,34 ^{ab}	5,44±0,17 ^{ab}	42,01±2,36 ^{abc}	27,92±2,05 ^a	54,49±0,19 ^{cd}
A9 120/40/20	17,14±0,09 ^a	6,03±0,24 ^{abc}	46,04±2,03 ^{abcd}	119,54±6,74 ^a	63,48±1,54 ^{de}
A10 180/30/20	15,16±0,22 ^a	5,58±0,08 ^{ab}	41,94±2,13 ^{abc}	29,23±1,89 ^a	41,44±0,73 ^{ab}
A11 120/30/40	17,43±1,9 ^a	5,83±0,04 ^{ab}	49,35±0,27 ^{abcd}	103,99±5,97 ^a	59,62±0,46 ^d
A12 120/20/20	15,02±0,09 ^a	7,83±0,84 ^{abcd}	51,07±1,01 ^{abcde}	65,54±3,42 ^a	63,26±3,73 ^{de}
A13 180/30/60	16,53±0,52 ^a	3,85±0,17 ^a	38,48±3,15 ^{ab}	41,65±2,93 ^a	48,36±0,19 ^{bc}
A14 60/30/20	27,63±2,16 ^{de}	14,86±0,44 ^e	62,87±9,25 ^{de}	268,41±52,02 ^b	74,52±0,77 ^f
A15 180/20/40	15,29±0,09 ^a	10,58±0,15 ^{bcd}	42,15±0,22 ^{abc}	23,47±4,96 ^a	40,66±1,05 ^{ab}

*Los resultados se expresaron como la media ± la desviación estándar de al menos 4 replicados. Las medias con supraindices iguales indican diferencias no significativas ($P>0.05$). Control (Fruta fresca), PT (mg EAG/g m.s), FT (mg CAT/g m.s), CT (mg β -carot/g m.s), AA (mg AA/g m.s), DPPH (% AOA)

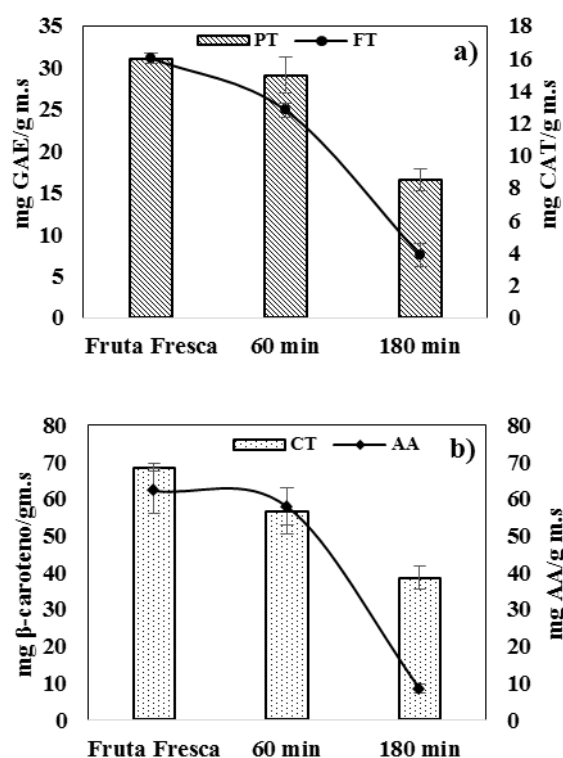
La **Tabla 2** muestra la influencia de la temperatura (T), tiempo de residencia (t) y concentración de la solución osmótica (C) correspondientes a los distintos tratamientos.

Se detectó que, tanto el contenido de bioactivos (PT, CT, FT, AA) como la capacidad de secuestro del radical DPPH (AOA) dependían únicamente del tiempo de residencia ($P<0,05$).

Las frutas tratadas a $t = 60$ min (A1, A5, A6, A14; **Tabla 2**) presentaron una concentración de bioactivos (PT, CT, FT) y de capacidad de secuestro del DPPH similares a los de la fruta fresca ($P> 0.05$). Sin embargo, el aumento de "t" = 180 min (A3, A4, A8, A10 y A15) produjo una pérdida 30-40% en el contenido de PT, FT y CT y del 80% en AA (**Tabla 2, Figura 1(a,b,e)**) mientras que AOA disminuyó 30%.

La estabilidad de los compuestos bioactivos siguió el siguiente orden $PT > CT > FT > AA$.

La influencia del tiempo de residencia en AOA era independiente del tipo de bioactivo.



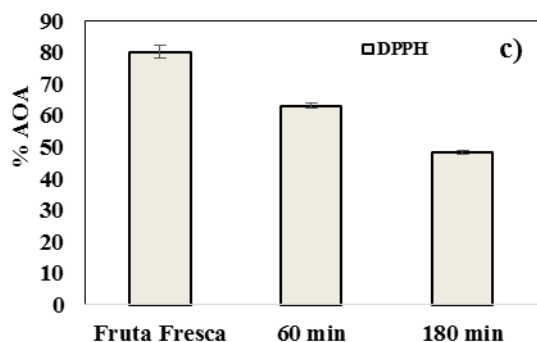


Figura 1. Efecto del tiempo de residencia (60 y 180 min) en la concentración de compuestos bioactivos: Polifenoles totales (PT), Flavonoides totales (FT), b) Carotenoides totales (CT) Ácido ascórbico (AA), c) Estabilización del radical DPPH*

3.1 Ajuste de la ecuación del modelo de regresión

La **Tabla 3** muestra las ecuaciones obtenidas que describen la relación entre las variables dependientes y las condiciones operativas (T, t y C). Los resultados del análisis de regresión indicaron que el ajuste de los datos experimentales al modelo (Ec. 5) fue bueno R^2 (96,1%).

En todos los casos se detectó que el tiempo de residencia tuvo un efecto antagónico ($P < 0.05$; **Tabla 3**) en las respuestas analizadas, que fue parcialmente compensado por el termino cuadrático en PT y AA.

Tabla 3. Ecuaciones de regresión para el ajuste del modelo de las diferentes variables estudiadas durante la DO de arazá

Variables	Ecuación del modelo ajustado	R^2 (%)	R^2_{adj} (%)
PT	$25,691 - 0,259*t + 0,0007*t^2$	96,43	89,99
FT	$17,198 - 0,133*t$	75,26	69,82
CT	$24,86 - 0,039*t$	86,67	72,84
AA	$142,013 - 1,664*t + 0,004*t^2$	96,82	91,12
DPPH	$124,809 - 0,306*t$	95,66	87,86

3.2 Optimización

Para mejorar el proceso de secado osmótico teniendo en cuenta todas las variables estudiadas, las respuestas combinadas se optimizaron numéricamente mediante la función de deseabilidad (Granato *et al.*, 2010; **Tabla 4**).

Los valores más altos de deseabilidad (0,83 - 0,95) correspondieron a tratamientos con tiempos de residencia 60 min, temperatura entre 20 y 40 °C y

concentraciones entre 20 y 60 °Bx (A1, A5, A6 y A14; **Tabla 4**).

Tabla 4. Valores predichos y observados para la función de deseabilidad durante los diferentes ensayos de DO en arazá

Ensayo	Deseabilidad	
	Predicha	Observada
A1	0,84	0,83
A2	0,40	0,39
A3	0,00	0,01
A4	0,38	0,41
A5	0,86	0,83
A6	0,84	0,84
A7	0,26	0,26
A8	0,38	0,25
A9	0,34	0,35
A10	0,06	0,08
A11	0,38	0,37
A12	0,32	0,18
A13	0,17	0,15
A14	0,94	0,95
A15	0,00	0,11

Los valores óptimos de las variables respuesta para una $t = 60$ min, $T = 34,16$ °C y $C=20$ °Bx se mostraron en la **Tabla 5** para una deseabilidad 0,94.

Tabla 5. Valores óptimos de las variables respuesta de DO según la función de deseabilidad (0,94)

Variables	Valores óptimos
PT	26,73
FT	12,92
CT	63,55
AA	286,67
DPPH	77,00

La **Figura 3** muestra la dependencia de la función de deseabilidad con; (a) tiempo de residencia y concentración de la solución deshidratante a la temperatura óptima (34,16 °C); (b) tiempo de residencia y temperatura a C óptima (20°Bx).

- a) Concentración de sacarosa = 20 °Bx
Temperatura = 34,16 °C

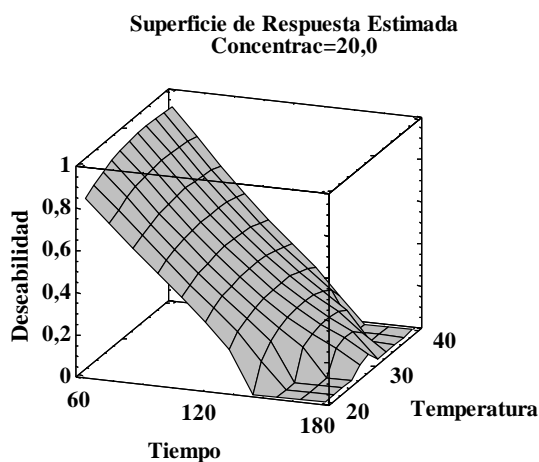
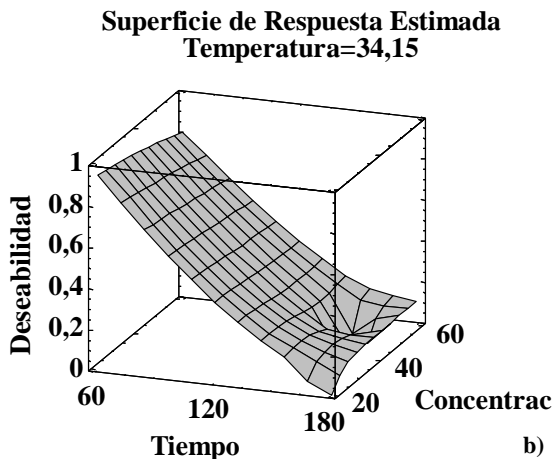


Figura 3. Relación entre la deseabilidad /t y a) C a 34,15 °C y b) T a 20 °Bx

4. Conclusión

La influencia de las variables de proceso (t, T, C) en la concentración de los distintos bioactivos (PT, FT, CT, AA) y en la capacidad de secuestro del radical DPPH fue satisfactoriamente predicha mediante un modelo polinómico

Los resultados indicaron que la única variable de proceso que afectó significativamente y en forma negativa fue el tiempo de residencia. En el caso de PT y AA, este efecto se vio parcialmente compensado por su correspondiente término cuadrático.

Las condiciones de procesamiento óptimas obtenidas mediante la función de deseabilidad fueron:

Tiempo de inmersión = 60 min

5. Referencias

AOAC. (2002). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, 17th ed., William Horwitz Ed.; Gaithersburg.

Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. (1995). *Use of free radical method to evaluate antioxidant activity*. *Lebensm Wiss Technology*; 28:25-30.

Chang, C.; Yang, M.; Wen, H.; Chern, J. (2002). *Estimation of total flavonoids content in propolis by two complementary colorimetric methods*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10: 176-182.

Ciurzyńska, A.; Kowalska, H.; Czajkowska, K.; Lenart, A. (2016). *Osmotic dehydration in production of sustainable and healthy food*. *Trends in Food Science & Technology*, 50, 186-192.

Granato, D.; Ribeiro, J.C.B.; Castro, I.A.; Masson, M.L. (2010). *Sensory evaluation and physicochemical optimization of soy-based desserts using response surface methodology*. *Food Chemistry*, 121(3), 899-906.

Novakova, L.; Solich, P.; Solichova, D. (2008). *HPLC methods for simultaneous determination of ascorbic and dehydroascorbic acids*. *Analytical Chemistry*, 27(10):942-58.

Ordoñez-Santos, L.E.; Aguilar, P.H.; Solarte, O.D.R.; Jaramillo, M.E.A. (2014). *Concentración de carotenoides totales en residuos de frutas tropicales*. *Producción+ limpia*, 9(1).

Saura-Calixto, F.; Serrano, J.; Goñi, I. (2007). *Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet*. *Food Chemistry*, 101(2), 492-501.

Schlesier, K.; Harwat, M.; Bohm, V.; Bitsch, R. (2002). *Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods*. *Free Radical Research*, 36:177-87.

33TCA. Envases biodegradables a base de gelatina para la conservación de arándanos

Biodegradable packaging based on gelatin for blueberries conservation

Aníbal Slavutsky^{1,2}, José Bravo¹, Estela Patricia Lopez³, Luz María Seppi², José Guari¹, María Alejandra Bertuzzi^{1,2}.

1. Facultad de Ingeniería-UNSa. Av. Bolivia 5150. 2. Instituto de Investigaciones para la Industria Química- CONICET. Av. Bolivia 5150. 3. Instituto de Investigaciones Sensoriales de Alimentos (IISA), Facultad de Ciencias de la Salud-UNSa. Av. Bolivia 5150. amslavutsky@gmail.com.

Resumen

Los arándanos son frutas finas de gran demanda mundial pero altamente perecederas. Las películas biodegradables presentan permeabilidad selectiva a gases, tales como, CO₂ y O₂, posibilitando su aplicación en envases que generen atmosferas modificadas en su interior. Esto permite aumentar la vida útil del producto y extender su periodo de comercialización. El objetivo del presente trabajo fue utilizar films a base de gelatina, con y sin el agregado de ácido esteárico, para el envasado de arándanos y estudiar su efecto sobre la vida útil de los frutos, evaluada desde el punto de vista físico-químico y sensorial. Los resultados indicaron, que los arándanos envasados en films de gelatina poseen menor velocidad de maduración, comparada con las muestras control y con los envasados en films de gelatina con ácido esteárico. El análisis sensorial no mostró diferencias significativas entre la fruta almacenada en condiciones convencionales y la fruta envasada con los films comestibles. El empleo de envases biodegradables permite la generación de atmosferas modificadas, aumentando la vida útil del producto desde el punto de vista físico-químico. Además, permite una disminución de la contaminación producida por el desecho de materiales altamente contaminantes como los plásticos.

Palabras clave: Arándanos; Películas biodegradables; Vida útil.

Abstract

Blueberries are fine fruits of high global demand but highly perishable. The biodegradable films present selective permeability to gases, such as CO₂ and O₂, allowing their application in packages that generates modified atmospheres inside. This would increase the shelf life of the product and its marketing period. The objective of this work was to use gelatin-based films, with and without the addition of stearic acid, for blueberries packaging and to study their effect on shelf life of the fruits, it was seen from the physical-chemical and sensorial point of view. The results indicated that blueberries packed in gelatin films have a slower ripening speed compared to control samples and those packaged in gelatin films with stearic acid. The sensory analysis does not show significant differences between the fruit stored in conventional conditions and the fruit packed in edible films. The use of biodegradable packaging allows the generation of modified atmospheres, increasing the shelf life of the product from the physical-chemical point of view. In addition, it allows a reduction in pollution caused by the disposal of highly polluting materials such as plastics.

Keywords: Blueberries, Biodegradable films, Shelf life.

1. Introducción

La creciente demanda de alimentos frescos, nutritivos y mínimamente procesados, sumados a la globalización del comercio de estos productos, ha creado importantes desafíos para la industria del envasado de alimentos. Además, la mayor conciencia de una dieta saludable y la necesidad del mantenimiento de la calidad y la seguridad en las cadenas de distribución, han dado como resultado el crecimiento de tecnologías innovadoras en el procesamiento de alimentos (Caleb *et al.*, 2013; Siró, 2012). Por lo tanto, se reconoce que el envasado es una tecnología de procesamiento de alimentos indispensable, particularmente para la manipulación y entrega segura de productos frescos como frutas y verduras (Opara y Mditshwa, 2013; Ramos *et al.*, 2013). De estas tecnologías, las tecnologías de envasado en atmósfera modificada (MAP) y atmósfera controlada, ofrecen la posibilidad de ampliar y preservar la calidad y vida útil de las frutas y verduras frescas (Solitani *et al.*, 2015). Las frutas y verduras, al ser cosechadas, mantienen sus funciones biológicas hasta el momento en que se consumen frescas, cocidas, o tratadas para su conservación. El control de la respiración mejora la capacidad de almacenamiento y prolonga la vida útil de los productos frescos, logrando que los vegetales retarden su senescencia y degradación. La evolución de la maduración de los frutos se ve afectada por una serie de factores, incluyendo la especie y variedad, concentraciones de O_2 y CO_2 , la presión de vapor de agua, etc. (Brecht *et al.*, 2004). En la técnica MAP, la composición del aire en el envase se modifica para prolongar el estado original de las frutas y verduras. Esto generalmente se logra reduciendo el contenido de oxígeno atmosférico (O_2) y elevando el de dióxido de carbono (CO_2), lo que produce además, la reducción del crecimiento de microorganismos aeróbicos y la disminución de reacciones de oxidación (Churc y Parsons, 1995; Robertson, 2013). El balance de gases en el envase puede realizarse utilizando medios activos como la inyección de gases y el vacío compensado, o mediante técnicas pasivas, como el envasado en atmósfera modificada de equilibrio (EMAP) (Robertson, 2013). EMAP es la técnica más utilizada para productos frescos en los que la permeabilidad del envase frente al O_2 y al CO_2 permite regular el nivel de respiración del producto (Del-Valle *et al.*, 2009; Mattos *et al.*, 2012; Sandhya, 2010; Siddiqui *et al.*, 2011). Se establece un EMAP cuando la tasa de transmisión de gases (O_2 y CO_2) del envase se equilibran con la tasa de consumo de O_2 y de producción de CO_2 del producto envasado (Jacxsens *et al.*, 2000). En la actualidad, el polietileno petroquímico convencional de baja densidad, el cloruro de polivinilo y el polipropileno orientado

(OPP) representan aproximadamente el 90% de los MAP empleados en frutas y vegetales. Si bien estos materiales son versátiles y presentan buenas propiedades mecánicas, no son lo suficientemente permeables para frutas y verduras que poseen una elevada tasa de respiración (Sandhya, 2010). Además, el desecho de estos materiales produce elevadas tasas de contaminación ambiental.

Las películas biodegradables pueden actuar como una barrera protectora que favorezca la disminución de la velocidad de deterioro de estos frutos. Las películas o recubrimientos comestibles pueden definirse como una capa fina de material aplicada sobre o entre alimentos por inmersión, pulverizado, pincelado, etc., con el fin de proveer de una barrera selectiva contra la transmisión de gases, vapores y solutos, mientras ofrecen también protección mecánica (Kester y Fennema, 1986). Los recubrimientos comestibles han demostrado la capacidad de mejorar la calidad de los alimentos y prolongar la vida útil de productos frescos, mediante la regulación de la transferencia de humedad, oxígeno, dióxido de carbono, aromas, etc. (Baker *et al.*, 1994; Baldwin y Baker, 2002; Olivas y Barbosa-Canovas 2005; Park *et al.*, 2005). La permeabilidad a gases de la gelatina, permite que la misma pueda ser empleada para generar atmósferas modificadas en diferentes alimentos. Sin embargo, debido a la elevada permeabilidad al vapor de agua que presenta, los films y recubrimientos producidos a partir de esta proteína deben ser modificados a fin de mejorar su comportamiento. El ácido esteárico, ha sido empleado para disminuir la permeabilidad al vapor de agua en diferentes films. Sin embargo, la incorporación de este lípido, modifica también las propiedades frente a los diferentes gases. Además, si no se logra una buena dispersión del lípido en la matriz polimérica, pueden generarse modificación microestructurales en la matriz polimérica que conlleva a un aumento de la permeabilidad al agua y gases en general (Soradec *et al.*, 2017; Chiumarelli, y Hubinger, 2014; Thakur *et al.*, 2016; Rezvani *et al.*, 2013).

El arándano es una fruta rica en vitamina C, fibra, potasio, hierro y calcio, cuyo consumo se aconseja para potenciar al sistema inmunológico, proteger el rendimiento del cerebro, reducir el riesgo de contraer Mal de Parkinson y desarrollar diabetes tipo 2, entre otros beneficios. La producción de esta fruta es estacional, siendo Estados Unidos el mayor productor y consumidor a nivel mundial. La exportación de la producción argentina de arándanos, tanto a ese país como a Europa, se ve favorecida por salir en contra-estación a la producción del hemisferio norte. Por tratarse de una fruta climatérica con una alta velocidad de deterioro, las condiciones de conservación de la fruta son

estrictas y de costoso mantenimiento, es así que se recomienda su conservación a 0°C y 90-95% de humedad relativa (Paniagua *et al.*, 2014). Los atributos de calidad más importantes que contribuyen a la comercialización de productos frescos y mínimamente procesados son la apariencia (color, brillo, textura visual), textura bucal y manual (turgencia, jugosidad, dureza o terneza dependiendo del fruto), sabor (dulzor, acidez), valor nutritivo y seguridad microbiana. Estos atributos de calidad son determinados por las variedades vegetales, la madurez y las condiciones pre y postcosecha. Todos ellos pueden cambiar rápidamente durante su almacenamiento. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto sobre la vida útil de arándanos de envases biodegradables a base de gelatina.

2. Materiales y métodos

2.1. Materia prima

Se emplearon arándanos de la variedad "Snowchaser". Los mismos fueron donados por la empresa Extraberry S.A., ubicada en la Ciudad de Méta, Salta. Los arándanos fueron cosechados y sometidos a los criterios de selección de la empresa y transportados al laboratorio, donde se realizaron los estudios. Los envases se formularon con gelatina (Emeth) y se emplearon como aditivos, glicerol (Biopack), Tween 80 y ácido esteárico (Sigma).

2.2. Formulación de películas biodegradables

Se formularon dos tipos de películas:

0% AE: se empleó como matriz filmogénica gelatina al 5%, con la incorporación de plastificante (glicerol) al 10% (p/p_{gelatina}) y Tween 80 al 1% (p/p_{gelatina}). La suspensión, se calentó durante 10 minutos a 90°C y se vertieron 200 mL en moldes plásticos de 30x30cm. Las películas se secaron durante 24 horas a 30°C. Luego se procedió a la separación de los films de los moldes. Las películas obtenidas, se mantuvieron a 5°C y 80% de humedad, hasta el momento de utilización.

5% AE: Se formularon films de gelatina con la incorporación de ácido esteárico al 5% (p/p_{gelatina}). Para esto, se disolvió la gelatina con el procedimiento antes descripto. Luego, a la solución de gelatina se le incorporó el ácido esteárico y se procedió a calentar la suspensión a 90°C durante 5 min. Posteriormente se homogeneizó la suspensión a 30.000 rpm durante 1 min. Luego, se procedió al vertido de las soluciones en los moldes y al secado y conservación de los films a 5°C y 80% de humedad, hasta el momento de utilización.

2.3. Obtención de envases

Las películas obtenidas, se cortaron en dimensiones de 13x17cm. Luego, se procedió a sellar 3 de los 4 bordes mediante el empleo de una selladora al vacío (Saver food, USA). Se introdujeron en los envases, 70 g de arándanos frescos y se sellaron (Fig. 1b). Como fruta control, se empleó el empaque empleado para su comercialización por la empresa Extraberries S.A (Fig 1a) denominado clamshepp. Cada envase se relleno con aproximadamente, 70 g de arándanos. Luego, la fruta se conservó a 5°C y 80% de humedad. En total, se trabajó con 3 lotes (control, 0% AE y 5% AE), con 6 repeticiones cada uno. La fruta se conservó a 5°C y 85% de humedad.

2.4. Análisis físico-químico de la fruta

Sólidos solubles totales (SST) y acidez titulable: Estos análisis, se realizaron a partir de la pulpa de las frutas. Para esto, se pesaron, 50 g de fruta, y se homogeneizaron empleando un procesador de alimentos doméstico (ATMA, Argentina).

Los sólidos solubles se determinaron siguiendo el método estándar AOAC 932.12. Los análisis se realizaron con un refractómetro (Hand Held Refractometer ZGRB-32ATC, USA). Cada análisis se realizó por triplicado. Los resultados se expresaron en °Brix.

Para la determinación de la acidez titulable, (AT) se pesaron 5 g de pulpa a los que se les adiciono 50 mL de agua destilada y se procedió a la titulación empleando una solución de NaOH 0.1 M, hasta pH = 8.2. La acidez titulable se expresó como g ácido cítrico/100g de fruta. El pH se determinó empleando un pH-metro (ARCANO, Argentina). Cada análisis se realizó por triplicado.

Firmeza: La firmeza de la fruta se determinó mediante un ensayo de punción empleando un penetrómetro para frutas (SCHWYZ, Suiza). Se realizaron 10 ensayos por lote.

La pérdida de peso se determinó a partir de la diferencia de peso de la fruta medida desde el día 0 hasta el final del análisis. Los resultados se expresaron en % de pérdida de peso.



Figura 7. a). Arándanos envasados en empaques tradicionales (clamshell). b) Arándanos envasados en películas de gelatina (0% AE).

2.5. Análisis sensorial

Se llevó a cabo una prueba descriptiva-cuantitativa a fin de determinar la calidad sensorial de cada lote. Las pruebas se realizaron en el Instituto de Investigaciones Sensoriales de Alimentos (IISA – Facultad de Ciencias de la Salud, de la Universidad Nacional de Salta) con un panel semi-entrenado de 8 integrantes. Se consideró semi-entrenados a personas con conocimiento previo del producto y del uso y aplicación de escalas sensoriales. A cada miembro del panel se le entregó un formulario de evaluación con la información contenida en la Tabla 1, donde se listaron los atributos a evaluar, con sus respectivos puntajes máximos. Los atributos evaluados y los puntajes máximos se establecieron por consenso en un Focus Group. La sumatoria de los puntajes para cada atributo se tomó como puntaje total de calidad sensorial para cada muestra, considerándose óptima si alcanzara los 100 puntos. Cada panelista evaluó 3 muestras por duplicado: un control y una muestra con cada tipo de envases propuesto. Se emplearon dos sesiones, ya que se evaluaron dos tiempos de almacenamiento (8 y 16 días). En todos los casos, las muestras se presentaron

a cada evaluador en una bandeja, codificadas aleatoriamente.

Tabla 1. Formulario de evaluación sensorial.

Atributo	Puntaje máximo por atributo	Muestra		
Color	20			
Aroma	10			
Sabor	35			
Textura	35			
Total	100			

2.6. Análisis estadístico

Toda la información obtenida fue procesada por medio de métodos estadísticos, mediante el análisis de ANOVA con test de Tukey ($p < 0.05$). Los datos se analizaron empleando el software Graph Pad Prism, e Infostat v2012p.

3. Resultados y Discusión

3.1. Análisis físico-químico de la fruta.

Se analizaron los cambios físico-químicos de la fruta a los 8 y 16 días de almacenamiento. En la Figura 2, se observa la pérdida de peso de la fruta durante el periodo estudiado.

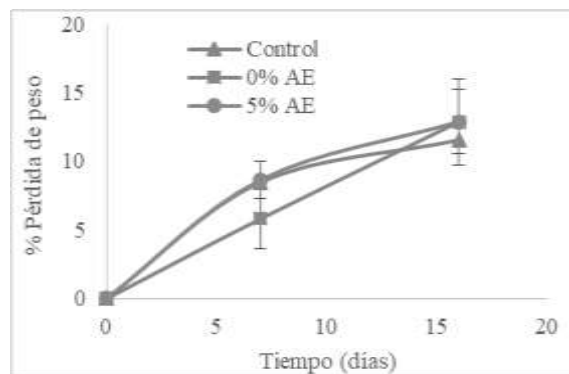


Figura 8. Pérdida de peso en función del tiempo.

Los resultados indican que las muestras conservadas en el envase 0% AE presentan menor pérdida de peso a los 8 días de conservación. Sin embargo, a los 16 días de almacenamiento, la pérdida de peso es similar en todos los casos. Esto puede deberse, a que el envase utilizado, genera una barrera contra la pérdida de vapor de agua al medio circundante, creando un aumento de humedad en el interior de la bolsa. De esta manera, disminuye la fuerza impulsora (diferencias de actividades de agua), entre la fruta y el medio que la rodea. A su vez, de acuerdo con Slavutsky y Bertuzzi (2015), el

aumento del contenido de humedad de películas hidrofílicas, produce un aumento de la solubilidad del agua en el film, lo que conlleva a un incremento de la movilidad de las moléculas, favoreciendo la mayor transferencia de agua a través del film. En base a esto, es posible que a medida que aumenta la humedad retenida, aumente el contenido de humedad de la película y se produzca un deterioro de las propiedades de barrera de la película.

El ablandamiento de la fruta, es uno de los factores más importantes de deterioro de calidad durante el almacenamiento post-cosecha. Generalmente es causado por la hidrólisis del almidón en azúcar y la degradación de la pectina de la pared celular de la fruta asociada a la maduración (Thompson, 1996). Por el contrario, la pérdida de agua de la fruta puede conducir a un endurecimiento. Tanto el ablandamiento como el endurecimiento del producto, afectan la firmeza. En la Figura 3, se observan los resultados de firmeza medidos por punción. Como se observa, no existen diferencias significativas entre las muestras para este parámetro.

La firmeza de la fruta y la pérdida de agua se encuentran relacionadas, ya que es aceptado que la pérdida de agua conduce a una mayor firmeza durante la primera etapa del almacenamiento (Chiabrando y Giacalone, 2006), y las variaciones entre las frutas individuales causan fluctuaciones en los valores de firmeza, lo que conduce a tendencias poco claras. A su vez, la firmeza de los arándanos, disminuye a medida que aumenta el tiempo de conservación, lo que puede estar relacionado con la hidrólisis enzimática de los polisacáridos de la pared celular.

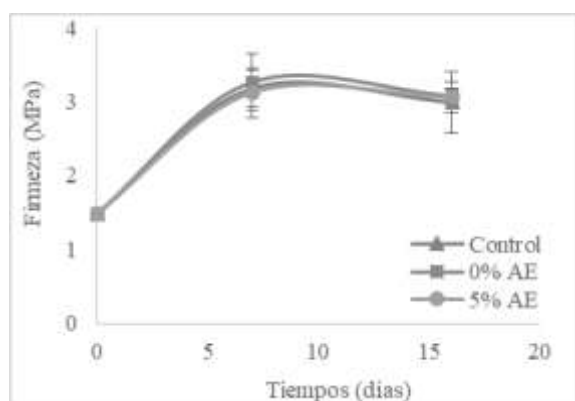


Figura 9. Firmeza de las frutas en función del tiempo

Durante el almacenamiento, se observa una disminución de la acidez titulable y un aumento de los SST y el pH de la fruta, producto de que la fruta continúa madurando y el metabolismo ácido da como resultado la conversión del almidón en azúcares y el consumo de ácidos orgánicos (Thompson, 1996; Verma y Joshi, 2000).

En la Tabla 2, se observan los resultados obtenidos para los SST durante el almacenamiento de los arándanos. Se observa que los SST aumentan significativamente en las muestras control, mientras que en las muestras envasadas en las diferentes bolsas, el aumento es menor.

Tabla 2. SST en función del tiempo

Muestra	SST (°Brix)		
	0 días	8 días	16 días
Control		12.5 ± 0.2 ^a	17.5 ± 0.3 ^a
0% AE	11.86 ± 0.4	12.1 ± 0.3 ^b	13.3 ± 0.2 ^b
5% AE		13.2 ± 0.3 ^b	12.9 ± 0.3 ^b

Letras iguales indican igualdad entre medias de la misma columna con un $p < 0.05$

El aumento de los SST está relacionado a la reducción en el contenido de agua en los arándanos durante el almacenamiento y al incremento en la tasa de respiración de la fruta, lo que conduce a un mayor consumo de polisacáridos, repercutiendo en el contenido de sólidos solubles. Silva (1998) informó que bajos niveles de CO₂ pueden reducir la velocidad a la que se utilizan los azúcares.

En la Tabla 3 figuran los resultados obtenidos para la acidez titulable. La disminución en el contenido de ácido es causada por el uso de los ácidos orgánicos como fuente de energía (Burton, 1985; Willis *et al.*, 1998). Los arándanos se caracterizan por poseer altos contenidos de ácido cítrico y succínico, con un promedio de 75% y 17%, respectivamente (Ehlenfeldt *et al.*, 1994). Por lo tanto, los resultados de acidez se expresaron como porcentaje de ácido cítrico. Se observa que la acidez disminuye de manera similar en las muestras control y empaquetadas en el envase 5% AE. En cambio, para las muestras envasadas en las películas 0% AE, la disminución de consumo de ácidos orgánicos fue menor.

Tabla 3. Acidez titulable en función del tiempo

Muestra	AT (g ac cítrico/100g)		
	0 días	8 días	16 días
Control		1.20 ± 0.02 ^a	1.30 ± 0.03 ^a
0% AE	1.49 ± 0.02	1.43 ± 0.09 ^b	1.40 ± 0.01 ^b
5% AE		1.22 ± 0.06 ^a	1.32 ± 0.05 ^a

Letras iguales indican igualdad entre medias de la misma columna con un $p < 0.05$

Resultados similares, fueron obtenidos por Almenar *et al.* (2005) y Duarte *et al.* (2009). La acidez titulable está directamente relacionada con la cantidad de ácidos orgánicos presentes en la fruta, y

se puede esperar una reducción como resultado de cambios metabólicos en la fruta o debido al uso de ácidos orgánicos en el proceso respiratorio (Maftoonazad *et al.*, 2008). Yaman y Bayoindirli (2002) proponen que la reducción de la tasa de respiración puede retrasar la utilización de ácidos orgánicos. Por lo tanto, el empleo de estos envases favoreció la retención de la acidez de la fruta, posiblemente, debido a la formación de una atmósfera controlada que previene el intercambio de gases. En la Figura 4, se observa la relación SST/AT. Un aumento de esta relación, indica que la fruta continúa madurando. La velocidad con la cual esta relación aumenta para la fruta control es superior a las muestras envasadas. Esto se debe, seguramente, a que el empleo de bolsas biodegradables produce una disminución de la tasa de respiración de la fruta, lo que conduce a un menor consumo de ácidos orgánicos y reduce la cantidad de polisacáridos hidrolizados durante el almacenamiento.

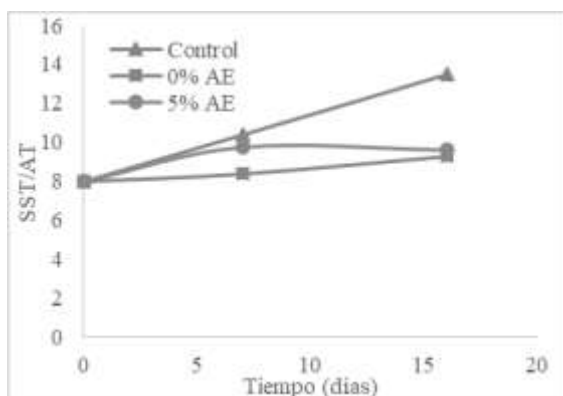


Figura 10. SST/AT en función del tiempo

3.2. Análisis sensorial de la fruta.

Con respecto al análisis sensorial, la Figura 5 muestra los resultados para la calidad total de cada una de las muestras analizadas a diferentes tiempos de almacenamiento. Solo se observó una diferencia entre la fruta envasada en 5% AE con 16 días de almacenamiento, ya que esta resultó la de menor calidad sensorial respecto a la muestra control con 8 días. Sin embargo, no se pudo detectar cuál fue el atributo responsable de la reducción de la calidad, ya que las características individuales no mostraron diferencias significativas para ninguna de las muestras y tiempos observados. En general, no se detectaron variaciones en la calidad derivadas del envase ni del tiempo de almacenamiento, lo cual no correlaciona con los parámetros fisicoquímicos, ya que los envases biodegradables propuestos evidenciaron disminuir la velocidad de maduración del fruto.

Posiblemente, la explicación a lo hallado en la calidad total responde a que la puntuación en color y

textura para la muestra 5% AE-16 días resultó menor, aunque no se hayan evidenciado diferencias significativas (Tabla 4).

Tabla 4. Atributos de calidad sensorial

	MUESTRA	COLOR	SABOR	TEXTURA
8 días	0% AE	15,40± 1,52a	32,00± 2,74a	29,60± 3,65a
	5% AE	15,20± 4,55a	29,00± 5,48a	27,80± 6,83a
	Control	17,80± 2,28a	29,80± 2,86a	32,00± 2,74a
16 días	0% AE	16,20± 2,83a	30,20± 1,92a	28,00± 1,92a
	5% AE	12,20± 3,70a	28,60± 1,82a	26,60± 5,41a
	Control	16,40± 3,65a	28,40± 2,07a	28,20± 2,39a

Letras iguales indican igualdad entre medias de la misma columna con un $p < 0.05$

Sin embargo, se evidenció beneficio en el uso de los envases propuestos, ya que mantienen la calidad sensorial del producto a lo largo del tiempo. Un aspecto positivo es que la textura de los arándanos almacenados en los envases biodegradables no se vio afectada sensorialmente, ya que este atributo es uno de los más afectados por el proceso de maduración de frutas. Es posible que el sabor no se haya visto afectado ya que se mantuvo prácticamente constante la relación SST/AT para las muestras en estudio. Si bien, la fruta control mostró variación en dicha relación, quizá esta diferencia no es detectable sensorialmente por lo cual no influyó en el atributo sabor.

Vale destacar que la Tabla 4 no muestra los datos para aroma ya que esta característica alcanzó la puntuación máxima para todas las muestras sin distinción.

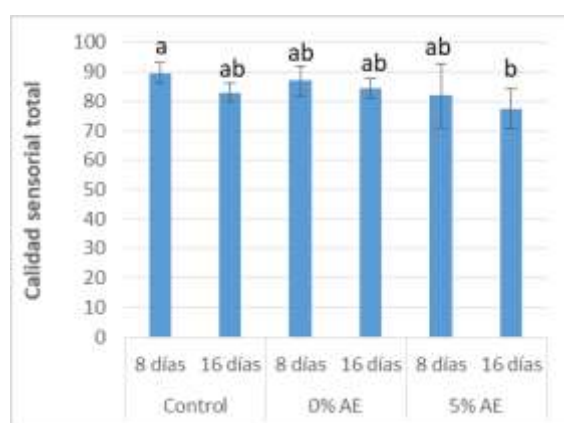


FIGURA 4. Calidad Sensorial. Letras diferentes en barras, denotan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las muestras según test de Tukey.

4. Conclusiones

Se obtuvieron envases biodegradables a base de gelatina con y sin el agregado de ácido esteárico y se emplearon para estudiar la modificación de la vida útil de los arándanos por 16 días. Los resultados físicos-químicos indican que el empleo de estos embalajes disminuye la velocidad de maduración de los frutos. En general, el análisis sensorial no mostró influencia en la calidad de las frutas dadas por el tipo de envase ni el tiempo de almacenamiento. El empleo de envases biodegradables, como remplazo de materiales plásticos, tiene ventajas desde el punto de vista ecológico, ya que favorece el cuidado del medio ambiente y disminuye la contaminación visual y ambiental, producida por materiales plásticos.

5. Referencias

- Almenar, E. y otros cinco autores. (2008). *Postharvest shelf life extension of blueberries using a biodegradable package*, Food Chemistry, 110(1), 120–127.
- Baker, R.; Baldwin, E.; Nisperos-Carriedo, M. (1994). *Edible coatings and films for processed foods*. In Edible coatings and films to improve food quality by J. M. Krochta, E. A. Baldwin, M. O. Nisperos-Carriedo, pp. 89–104. Lancaster, PA: Technomic Publishing Co., Inc.
- Baldwin, E.A.; Baker, R.A. (2002). *Use of proteins in edible coatings for whole and minimally processed fruits and vegetables*. In: Protein based films and coatings. By A. Gennadios, pp. 501–15. Boca Raton, Fla.: CRC Press.
- Brecht, J.K. y otros cuatro autores. (2004). *Fresh-cut vegetables and fruits*, Hort Review 30, 185–251.
- Caleb, O.J.; Mahajan, P.V.; Al-Said, F.A.; Opara, U.L. 2013. *Modified atmosphere packaging technology of fresh and fresh-cut produce and the microbial consequences—A review*, Food Bioprocess Technology, 6, 303–329
- Chiabrando, V. y otros cuatro autores. 2006. *Postharvest quality of highbush blueberry (Vaccinium corymbosum L.) cultivars in relation to storage methods*, Acta Hort. 715, 545–551.
- Chiumarelli, M., & Hubinger, M. D. (2014). *Evaluation of edible films and coatings formulated with cassava starch, glycerol, carnauba wax and stearic acid*, Food Hydrocolloids, 38, 20–27.
- Churc, I.J.; Parsons, A.L. 1995. *Modified atmosphere packaging technology: A review*, Journal Science Food Agriculture, 67, 143–152.
- Del-Valle, V. y otros tres autores. 2009. *Optimization of an equilibrium modified atmosphere packaging (EMAP) for minimally processed mandarin segments*, Journal of Food Engineering, 91, 474–481.
- Ehlenfeldt, M.K.; Meredith, F.I.; Ballington, J.R. 1994. *Unique organic acid profile of Rabbiteye vs. highbush blueberries*, Hort Science, 29, 230–240.
- Jacxsens, L.; Devlieghere, F.; Debevere, J. (2002). *Predictive modelling for packaging design: Equilibrium modified atmosphere packages of fresh-cut vegetables subjected to a simulated distribution chain*. International Journal of Food Microbiology, 73, 331–341.
- Maftoonazad, N.; Ramaswamy, H.S.; Marcotte, M. 2008. *Shelf-life extension of peaches through sodium alginate and methyl cellulose edible coatings*, International Journal Food Science Technology, 43, 951–957.
- Mattos, L.M.; Moretti, C.L.; Ferreira, M.D. (2012). *Modified atmosphere packaging for Food perishable plant products*. In F. Dogan (Ed.), Polypropylene (pp. 95–110). InTech. Ch. 7.
- Olivas, G.I.; Barbosa-Cánovas, G.V.; 2005. *Edible coatings for fresh-cut fruits*, Critical Review Food Science Nutrition, 45, 657–670.
- Opara, U.L.; Mditshwa, A. (2013). *A review on the role of packaging in securing food system: Adding value to food products and reducing losses and wastes*, African Journal of Agricultural Research, 8, 2621–2630.
- Paniagua A.C; East, A.R; Heyes, J.A. (2014). *Interaction of temperature control deficiencies and atmosphere conditions during blueberry storage on quality outcomes*. Postharvest Biology and Technology 95, 50–59.
- Park, S. y otros tres autores. (2005). *Antifungal coatings on fresh strawberries (Fragaria × ananassa) to control mold growth during cold storage*, Journal Food Science 70, 202–7.
- Rezvani, E. y otros cuatro autores. (2013). *Assessment of physical and mechanical properties of sodium caseinate and stearic acid based film-forming emulsions and edible films*, Journal of Food Engineering, 116(2), 598–605.
- Robertson, G. L. (2013). *Food packaging: Principles and practice* (3rd ed.). 978-1-4398- 6241-4.
- Sandhya, M. (2010). *Modified atmosphere packaging of fresh produce: Current status and future needs*, LWT—Food Science and Technology 43, 381–392.
- Siddiqui, M.W. y otros tres autores. (2011). *Advances in minimal processing of fruits and*

vegetables: A review, Journal of Science and Industrial Research, 70, 823–834.

Silva, S., (1998). Regulation of glucolitic metabolism in asparagus spears (*Asparagus officinalis* L.). Ph.D. Thesis, Department of Horticulture, Michigan State University, USA.

Siró, I. (2012). Active and intelligent packaging of food. In R. Bhat, A. K. Alias, & G. Paliyath (Eds.), *Progress in food preservation* (pp. 23–48). (1st ed.). Oxford: Wiley Blackwell.

Slavutsky, A.M.; Bertuzzi, M.A. (2015). *Thermodynamic study of water sorption and water barrier properties of nanocomposite films based on brea gum*, Applied Clay Science, 108.

Solitani, M. y otros tres autores. (2015). *Modified atmosphere packaging: A progressive technology for shelf-life extension of fruits and vegetables*. Journal of Applied Packaging Research, 7(3), 33–59.

Soradach, S. y otros tres autores. (2017). *Utilization of shellac and gelatin composite film for coating to extend the shelf life of banana*, Food Control, 73, 1310–1317.

Thakur, R. y otros siete autores. (2016). Characterization of rice starch- ι -carrageenan biodegradable edible film. *Effect of stearic acid on the film properties*, International Journal of Biological Macromolecules, 93, 952–960.

Thompson, A.K. (1996). *Postharvest Technology of Fruit and Vegetables*. Harlow, Blackwell Science Ltd., Oxford.

Verma, L.R.; Joshi, V.K. (2000). *Postharvest Technology of Fruits and Vegetables: Handling, Processing, Fermentation, and Waste Management*. Indus Pub. Co., New Delhi, p.1222.

Yaman, Ö.; Bayoindirli, L. (2002). *Effects of an edible coating and cold storage on shelf-life and quality of cherries*, LWT—Food Science and Technology, 35: 146–150.

Yang, G., y otros cinco autores. (2014). *Blueberry leaf extracts incorporated chitosan coatings for preserving postharvest quality of fresh blueberries*, Postharvest Biology and Technology, 92, 46–53.

34TCA. Elaboración de snacks de frutilla por deshidratación

Elaboration of strawberry snacks by dehydration

Luz M. Seppi¹, Anibal Slavutsky^{1,2}, Alejandra Bertuzzi^{1,2}.

1. Instituto de investigación para la industria Química, Universidad Nacional de Salta, Argentina.
2. Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Salta, Argentina.

Luzseppi@gmail.com

Resumen

En la actualidad existe una marcada tendencia hacia productos más saludables, es por ello que los snacks saludables constituyen un mercado con un gran potencial de crecimiento. En este trabajo se estudió la deshidratación convectiva y aceptabilidad de un snack de frutillas deshidratadas (*var. Rubillen*). El objetivo fue optimizar las condiciones de secado que permitan obtener un producto de alta calidad sensorial. Se evaluó el efecto del espesor (6 y 12 mm) y la temperatura de secado (50 y 70°C). El proceso de secado fue seguido mediante la medición de la actividad de agua del producto. Se obtuvieron valores finales de $a_w < 0.6$ en todos los casos y el menor tiempo de secado fue para la muestra de 6 mm a 70°C. Las muestras obtenidas se sometieron a un análisis sensorial con 208 consumidores para evaluar la aceptabilidad de los snacks de frutillas, en general y por atributos de calidad. Se observa que el 70% de los consumidores compraría el snack y alrededor del 75% compraría el producto secado a 50°C de 6 mm de espesor. Este trabajo revela que hay un importante mercado potencial para la comercialización de los snacks de frutilla deshidratada.

Palabras clave: Frutilla, deshidratación, aceptabilidad.

Abstract

Currently there is a marked trend towards healthier products, which is why healthy snacks constitute a market with great growth potential. In this work we studied the convective dehydration and acceptability of dehydrated strawberry snack (*var. Rubillen*). The objective was to optimize the drying conditions to obtain a product with high sensory quality. The effect of thickness (6 and 12 mm) and drying temperature (50 and 70°C) was evaluated. The drying process was followed by measuring the water activity of the product. Water activities values lower than 0.6 were obtained in all cases and the shorter drying time was presented by the 6 mm samples dried at 70°C. The product samples were subjected to a sensory analysis with 208 consumers to evaluate the acceptability of the strawberry snacks, in general and for quality attributes. It was observed that 70% of consumers would buy the snack and about 75% would buy the product dried at 50°C and 6 mm thickness. This work reveals an important potential market for the commercialization of dehydrated strawberry snacks.

Keywords: Strawberry, dehydration, acceptability.

1. Introducción

La frutilla pertenece a la familia de las Rosáceas y al género *Fragaria* (en latín: *Fragancia*). Es un fruto de excepcionales características, que se consume en forma fresca, deshidratada, congelada o en conserva (Ortiz 2004). Argentina anualmente cultiva entre 1.300 y 1.500 ha de frutilla, con una producción aproximada de 45 mil a 52 mil toneladas anuales y la particularidad de disponer de este fruto gran parte del año, debido a la diversidad de climas que el país posee. En los valles de Salta y Jujuy se producen frutillas en aproximadamente 120 hectáreas con un rendimiento de 15.000 kg/ha (Kirschbaum 2017).

Es una fruta de gran interés en la industria alimentaria por su aporte de nutrientes y por su versatilidad en diferentes procesos industriales. Una alternativa saludable de presentación para el consumo que permite aumentar su vida útil, es la elaboración de snacks de fruta deshidratada. Por definición, un snack es un alimento que se consume fuera del horario de las comidas principales. Por lo general, en la calle y en un periodo corto de tiempo (Viviant 2007)

El aumento gradual de la obesidad que enfrentan los países más desarrollados y la creciente tendencia de los consumidores a adquirir alimentos más saludables, genera un reto para la industria en cuanto a la generación de nuevos productos que permitan satisfacer las necesidades de esta sociedad, es decir, producir alimentos que puedan ser consumidos fácilmente dentro del agitado ritmo de vida actual, pero que a la vez sean saludables (Alimenticia 2013). Actualmente, la industria de los snacks se está enfocando en nuevos productos que proporcionen tanto la practicidad para el consumo, como los aspectos nutricionales pretendidos por los consumidores (barritas de cereal, mix de frutos secos, etc.). Este panorama abre una infinita gama de posibilidades para el desarrollo de nuevos productos, considerando para ello la selección de materias primas saludables, la disminución del contenido de sodio, azúcar y grasas y la adecuación de procesos tecnológicos capaces de salvaguardar la calidad nutricional de los productos.

La deshidratación consiste en la eliminación del agua contenida en los alimentos, usualmente por medios térmicos. La remoción de agua genera la pérdida de peso del alimento y la disminución del volumen, lo cual permite reducir los costos de almacenamiento, transporte y distribución (Toledo 2007). La deshidratación por aire caliente es la técnica de secado más sencilla. Tiene lugar en el interior de una cámara cerrada a altas temperaturas, por la que se hace pasar el medio de secado, aire caliente, sobre el producto, colocado sobre bandejas abiertas (Rahman 2002).

La OMS recomienda consumir de 4 a 5 piezas de fruta y verdura (400 g) por día, siendo actualmente

dicha ingesta muy inferior a dicha meta. En nuestro país el consumo diario por persona de frutas y verduras se estima en 271 g (Cunzolo 2017).

El objetivo de este trabajo es elaborar un snack a partir de la deshidratación de rodajas de frutillas con buena calidad y aceptabilidad. Para ello se estudiará la influencia de la temperatura de secado y el espesor de rodajas de frutillas, sobre el tiempo de secado y la calidad final de las mismas.

Por último, se evaluará a través de un análisis sensorial con consumidores, las propiedades organolépticas de los snack de frutilla y la aceptabilidad de los mismos mediante distintos aspectos asociados a los sentidos: vista (color y apariencia), olfato (aroma y flavor), tacto (manual y bucal), oído (tacto y masticación) y gusto (sabor). Todos estos aspectos serán contemplados por los consumidores a la hora de decidir sobre la adquisición del producto, es por ello que también se consultará sobre la intención de compra.

2. Materiales y métodos

2.1 Materia prima

Se emplearon frutillas de la variedad Rubiyen producidas en el departamento de Monterrico, provincia de Jujuy, Argentina. Se seleccionaron con una madurez entre 8–10 °Bx. La fruta se lavó, se cortó en rodajas de 6 y 12 mm, se pulverizó con una solución de ácido ascórbico al 5% y se secó a 50°C y 70°C. Se utilizó ácido ascórbico de grado alimenticio.

Las muestras se codificaron de la siguiente manera, según su tratamiento:

- **650:** 6 mm de espesor + 50°C + 5% Ácido ascórbico
- **1250:** 12 mm de espesor + 50°C + 5% Ácido ascórbico
- **670:** 6 mm de espesor + 70°C + 5% Ácido ascórbico
- **1270:** 12 mm de espesor + 70°C + 5% Ácido ascórbico

2.2 Métodos

Secado por convección.

El secado convectivo se realizó en estufa (Tecno Dalvo, Argentina) a 50 y 70°C. El peso de las muestras se tomó cada hora hasta obtener peso constante, empleando una balanza de precisión (Ohaus, USA). Después de concluir el proceso de secado, se retiraron las muestras y se registró el peso final de cada una, para luego envasarlas al vacío en bolsas herméticas.

Actividad de agua.

La a_w se midió en intervalos de una hora, empleando un medidor de actividad de agua (Rotronic, USA).

Cinética de secado.

Los pesos obtenidos se convirtieron de la siguiente manera:

$$Xt = \frac{w - W_s}{W_s} \quad (1)$$

Donde w es el peso del sólido húmedo en el tiempo "t" (kg de agua más sólido seco), W_s es el peso del sólido seco (kg sólido seco) y Xt es la relación entre el peso del agua y el peso del sólido seco en un tiempo determinado (kg de agua/kg sólido seco).

Después de haberse establecido las condiciones de velocidad de secado constante, se determinó el contenido de humedad de equilibrio, X^* (kg de agua en el equilibrio/kg de sólido seco) con el que se procedió a calcular el contenido de humedad libre X (kg de agua libre/kg de sólido seco) para cada valor de X_t .

$$X = X_t - X^* \quad (2)$$

Luego, se graficó el contenido de humedad libre (X) en función del tiempo (t). Para obtener la curva de velocidad de secado y a partir de esta gráfica, se midieron las pendientes de la curva, lo cual proporciona valores de dx/dt para cada valor de t. Luego se calculó la velocidad, R, para cada punto con la siguiente expresión:

$$R = -\frac{W_s}{A} * \frac{dX}{dt} \quad (3)$$

Donde A es la superficie expuesta (superficie de la rodaja).

Con el fin de evaluar el modelo que describe el comportamiento cinético de secado, se va a utilizar el modelo de Henderson Pabis.

$$MR = \frac{X - X_e}{X_0 - X_e} = n * \exp(-k * t) \quad (4)$$

Donde MR es la razón de humedad, X es la humedad en base seca (kg agua/kg sólido seco) a cada tiempo, X_e es la humedad de equilibrio (kg agua/kg sólido seco) y X_0 es la humedad inicial (kg agua/kg sólido seco), t es el tiempo en horas y k la constante del modelo, de la cual se puede calcular la difusividad de la siguiente manera:

$$k = \frac{D_f * \pi^2}{4 * l^2} \quad (5)$$

Donde l es el semi espesor de la rodaja.

Humedad final

La humedad final de las muestras, se determinó por gravimetría, luego de secar las muestras a 104°C por 24 h:

$$\%H = \frac{W_H}{W_S} * 100 \quad (6)$$

Dónde W_H es la cantidad de agua que posee la muestra y W_S es el peso seco de la muestra.

Análisis sensorial

Se seleccionaron al azar 208 consumidores entre 18 y 61 años, 160 mujeres y 44 varones. Cada consumidor evaluó dos muestras donde analizaron características sensoriales tales como: color, gomosidad, dulzor, acidez, sabor, textura y aceptabilidad general en una escala verbal hedónica de 9 puntos (1= me disgusta muchísimo, 9= me gusta muchísimo) y se indagó además acerca de la intención de compra. Las muestras fueron codificadas con tres dígitos al azar, evaluadas de manera aleatoria de la siguiente manera:

- **124:** Muestra 12 mm espesor; 50°C; 5% Ácido ascórbico.
- **790:** Muestra 6 mm espesor; 50°C; 5% Ácido ascórbico.
- **501:** Muestra 12 mm espesor; 70°C; 5% Ácido ascórbico.
- **310:** Muestra 6 mm espesor; 70°C; 5% Ácido ascórbico.

Análisis estadístico

Los datos se analizaron estadísticamente a través del análisis de la varianza (ANOVA) donde las muestras y tratamientos fueron considerados efectos fijos. Para la comparación de medias se realizó la prueba de Duncan. Se establecieron diferencias significativas cuando $p < 0,1$ y $p < 0,05$. Se utilizó el programa estadístico INFOSTAT v.2016p (Universidad Nacional de Córdoba).

3. Resultados y Discusión

Las muestras obtenidas, presentaron un color rojizo. Se puede apreciar la disminución de volumen, la pérdida de brillo y la marchites producida por la deshidratación de la fruta (Figura 1 y 2).



Figura 11: Frutillas cortadas de 12mm de espesor.



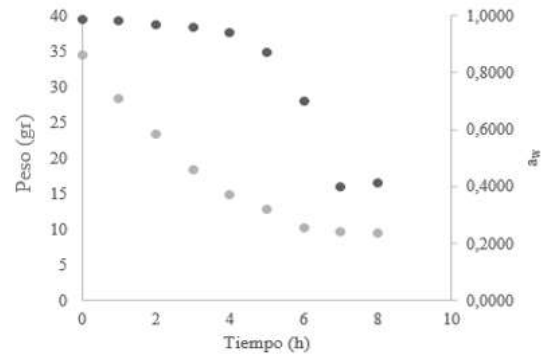
Figura 2: Snack de frutillas de 12mm.

El color, es uno de los atributos más importantes, ya que es el primer atributo evaluado por los consumidores. El cambio de color, está atribuido a reacciones de pardeamiento no enzimático. El incremento de temperatura y el tiempo de secado, influyen en el color final del producto obtenido. Esto, favorece las reacciones oxidativas de carotenoides, clorofila, antocianinas y betalainas. Sin embargo, la incorporación de ácido ascórbico como antioxidante en las condiciones estudiadas, no favoreció visiblemente la conservación de color y no influyó en el sabor final de los snack obtenidos, como se observa al analizar los resultados obtenidos durante la prueba con consumidores.

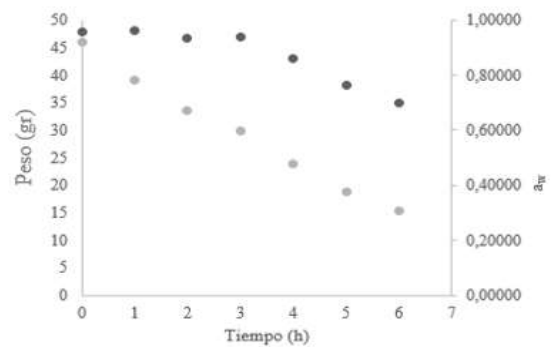
Actividad de agua y secado convectivo

En la Figura 3 se observa la relación entre el peso de las muestras y la actividad de agua en función del tiempo. A medida que las muestras son secadas, se elimina el agua libre de las mismas, lo que se ve reflejado en la disminución de la a_w . Como se observa en la Figura 3, el peso disminuye

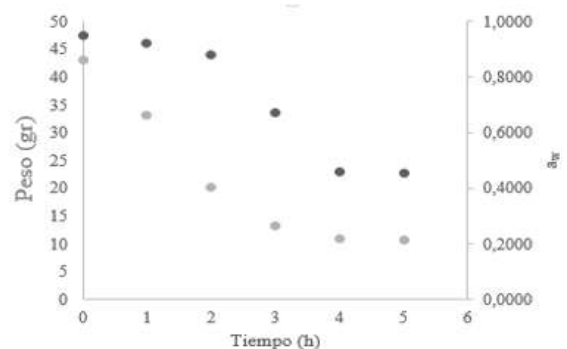
linealmente en las primeras horas de secado. En cambio, la actividad de agua, se mantiene constante durante ese período, coincidente con la eliminación del agua libre. La extensión de este período está relacionada con la temperatura de secado y el espesor de la rodaja. Cuando el secado se realizó a 50°C, la a_w permanece constante durante 3 y 4 horas de secado para las muestras 650 y 1250, respectivamente, en cambio, a 70°C, esto ocurre en las 2 y 3 primeras horas de secado, para las muestras 670 y 1270, respectivamente.



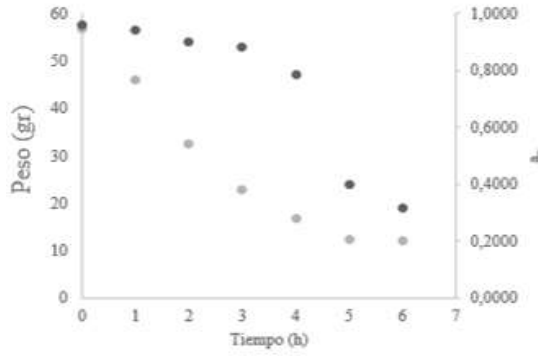
(a)



(b)



(c)



(d)
Figura 3: a_w y pérdida de peso (PP) vs tiempo.
(a) 650; (b) 1250; (c) 670; (d) 1270.

En la Tabla 1 se muestran los valores finales de a_w obtenidos para los diferentes lotes ensayados.

Tabla 6: Actividad de agua final de las muestras secadas por convección.

Muestra	a_w
650	0,4062
1250	0,4891
670	0,4551
1270	0,3586

Cinética de secado

Para la obtención del modelo cinético del proceso de secado, se construyeron las curvas de secado para cada muestra (Figura 4).

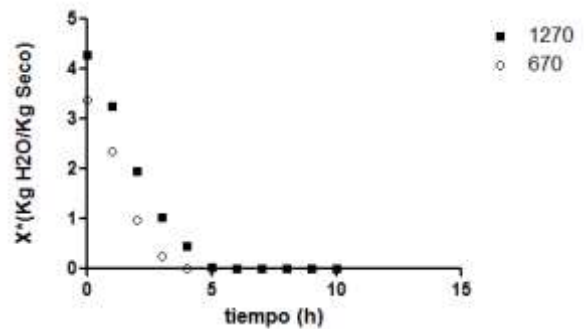
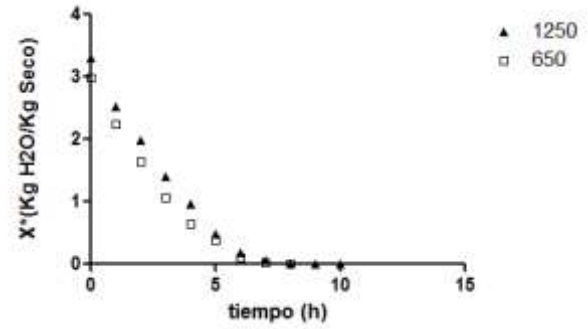


Figura 12: Datos experimentales de secado

La velocidad promedio de secado, se obtuvo de acuerdo a la ecuación 3. Los resultados obtenidos, se observan en la Tabla 2.

Tabla 7: Velocidad promedio de eliminación de agua

Muestra	R (kg H ₂ O/h.m ²)
1250	1,3161
650	1,0694
1270	2,2696
670	2,2781

Como es sabido, la eliminación de agua es un proceso termodinámico y de transferencia de materia, generado por la diferencia que existe entre los potenciales químicos del agua en el fruto y en el aire externo y que se ve favorecido por la temperatura. Durante el proceso de secado convectivo, se observa que la muestra 670 posee la mayor velocidad de eliminación de agua, esto está relacionado al menor espesor de rodaja y la mayor temperatura de secado.

Las muestras de mayor espesor, poseen una menor velocidad de secado a la misma temperatura, lo que indica un control difusivo del proceso.

Para modelar el periodo de velocidad decreciente en el secado se utilizó el modelo de Henderson Pabis (Ecuación 4), observándose un adecuado ajuste de los datos experimentales (Figura 5).

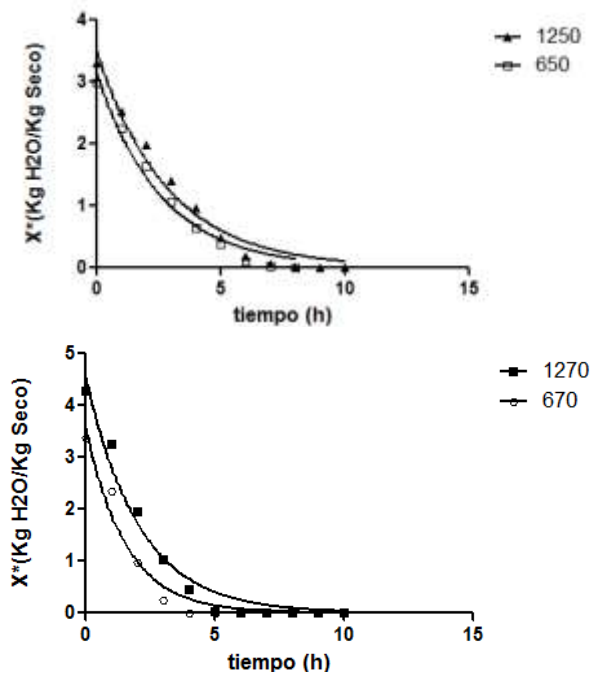


Figura 5: Datos experimentales y modelado matemático

El coeficiente de difusión (D_{eff}) se calculó a partir de la Ecuación 5 y los valores obtenidos se ven reflejados en la Tabla 3.

Tabla 8: Coeficiente de difusión

Muestra	$D_{eff}(m^2/s)*10^{-11}$
1250	1,64336
650	1,81060
1270	2,27453
670	3,01549

Los valores de difusividad aumentaron con el incremento de la temperatura, ya que al aumentar esta última la misma se favorece la movilidad molecular en el interior de la fruta, facilitando la difusión. Por otra parte, a medida que disminuye el espesor, la D_{eff} aumenta posiblemente debido a que aumenta el tiempo de secado, dando lugar a fenómenos de contracción de la estructura que dificultan el camino recorrido por las moléculas de agua.

Análisis sensorial

La apariencia es la primera impresión que el consumidor recibe y el componente más importante para la aceptación y eventual compra del producto. Distintos estudios indican que casi el 40 por ciento de los consumidores toma la decisión de compra en el interior del supermercado (Camelo 2003). La

forma es uno de los subcomponentes más fácilmente perceptibles, aunque en general, no es un parámetro de carácter decisivo de la calidad, a no ser que se trate de deformaciones o de defectos morfológicos. El flavor es la combinación de las sensaciones percibidas por la lengua (sabor o gusto) y por la nariz (aromas) (Wills, Lee et al. 1981). Sin bien son perfectamente separables uno de otro, por estar tan cerca los órganos receptores, simultáneamente al acto de acercarse a la boca, morder, masticar y degustar, estamos percibiendo los aromas, particularmente aquellos que se liberan con la trituración de los tejidos. También es posible hablar de un sabor/aroma visual, esto es, determinado aspectos externos, particularmente la madurez, que permite anticipar el sabor y/o aroma que se debe esperar al consumir el producto.

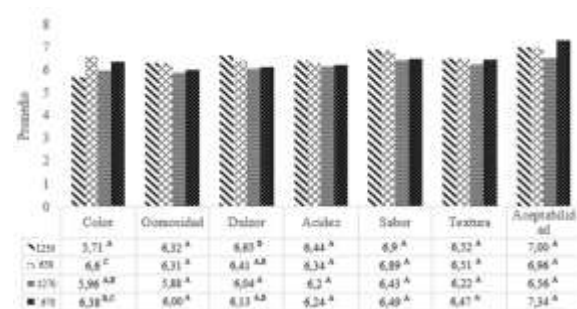
El análisis de la varianza aplicado a la escala hedónica, indicó diferencias significativas en el color ($p < 0,05$) y en el dulzor ($p < 0,1$) (Tabla 4).

Tabla 4: Resultados del análisis ANOVA de los atributos evaluados en el análisis sensorial

Atributo	SC	CM	F	Valor p
Color	49,6	16,53	5,46	<0,0011*
Gomosidad	15,1	5,03	1,73	<0,1600
Dulzor	23,47	7,82	2,11	<0,0983*
Acidez	3,6	1,2	0,32	<0,8106
Sabor	20,08	6,69	2,07	<0,1031
Textura	6,2	2,07	0,69	<0,5558
Aceptabilidad	31,74	10,58	0,74	<0,5313

SC: Suma de cuadrados; CM: Cuadrados medios; F: factor
* $p < 0.1$ valores significativos

La muestra secada a 50°C, de 6 mm de espesor y la muestra secada a 70°C, de 6 mm de espesor ambas rociadas con ácido ascórbico tuvieron el color más aceptado ($6,60 \pm 1,57$; $6,38 \pm 1,80$). Las muestras secadas a 50°C de 12 mm y 6 mm y la muestra secada a 70°C de 6 mm de espesor y rociada con ácido ascórbico gustaron por igual en relación al dulzor ($6,65 \pm 1,86$; $6,41 \pm 1,85$; $6,13 \pm 2,07$), tal como se puede observar en la Figura 3.



* Las medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Figura 6: Medias de la aceptabilidad general y por atributos de las muestras

Analizando la intención de compra del producto, se determinó que el 70% de las personas encuestadas compraría el snack; dentro de las cuales el 75% de consumidores comprarían el snack de 6 mm secado a 50°C. Esto muestra como el efecto del espesor y temperatura afecta en la decisión final del consumidor, ya que altas temperaturas modifican la calidad final del producto, si bien el secado es más rápido y disminuye el costo de producción, la calidad final percibida por el consumidor es menor.

Conclusiones

El producto obtenido es apto para consumir como snack a cualquier hora del día. En relación a la fruta fresca, las propiedades no sufren cambios significativos, siendo una presentación del alimento saludable, rico y fácil de consumir.

En cuanto a los tiempos de secado, al aumentar la temperatura de secado, aumenta la velocidad de eliminación de agua, disminuyendo notoriamente los tiempos finales de secado. El proceso de secado permitió alcanzar valores de a_w que aseguran la inhibición del crecimiento de microorganismos, aumentando su vida útil del producto.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis sensorial, la diferencia más significativa que se encontró fue en el color, esto revela que la percepción inicial de los consumidores frente a los snacks se desarrolla mediante el sentido de la vista, aunque la primera impresión no afecta la evaluación de los demás atributos.

En cuanto a la intención de compra, cerca del 70% de consumidores adquiriría el snack, lo que indica que existe un importante mercado potencial para este tipo de productos en nuestra región.

4. Referencias

Alimenticia, I. (2013). "10 Tendencias Globales." from <https://www.industriaalimenticia.com/articles/86576-tendencias-globales>.

Camelo, A. F. L. (2003). Manual para la preparación y venta de frutas y hortalizas [I: del campo al mercado, Food & Agriculture Org.

Cunzolo, F. (2017). Los argentinos comen menos frutas y verduras que el mínimo recomendado. Clarín. Buena Vida.

Kirschbaum, D. S. (2017). Boletín de frutas y hortalizas del convenio INTA CMCBA, INTA.

Ortiz, J. (2004). "El cultivo de la Frutilla (*Fragaria chiloensis* L.) ecotipo blanco." El cultivo de la Frutilla (*Fragaria chiloensis* L.) ecotipo blanco.

Rahman, M. S. (2002). Manual de la conservación de alimentos.

Toledo, R. T. (2007). Fundamentals of food process engineering, Springer Science & Business Media.

Viviant, V. (2007). "Snacks saludables, una novedosa tendencia." La Alimentación Latinoamericana(268): 58-61.

Wills, R., T. Lee, D. Graham, W. McGlasson and E. Hall (1981). Postharvest. An introduction to the physiology and handling of fruit and vegetables, Granada.

35TCA. Efecto de la incorporación de harina de soja y almidón pre-gelatinizado de mandioca sobre la calidad de pan libre de gluten a base de harinas de arroz.

Effect of the incorporation of soy flour and pre-gelatinized cassava starch on the quality of gluten-free breads based on rice flours.

Carolina E. Genevois^{1,3}, Johana A. Bordin¹, Gustavo J. Levin^{1,3}, Adriana P. Castellanos Fuentes², Marina de Escalada Pla^{2,3}.

1. Centro de Investigaciones y Transferencia de Entre Ríos (CITER) - Universidad Nacional de Entre Ríos (UNER). Pte. Perón 64, Gualeguaychú, Entre Ríos, Argentina.
2. Departamento de Industrias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Intendente Güiraldes 2160, CABA, Buenos Aires, Argentina.
3. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

cgenevois@di.fcen.uba.ar

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de diferentes niveles de reemplazo de una mezcla a base de harina, sémola y salvado de arroz Gurí INTA CL por harina de soja (HS) y almidón de mandioca pre-gelatinizado (AP), y el volumen de agua en la masa: sobre la calidad de pan libre (LG) de gluten. Se utilizó un diseño de Box-Behnken con tres variables independientes y tres niveles. Las variables respuestas estudiadas fueron el volumen específico (VE), la textura mediante un Análisis del Perfil de Textura, y el color de la miga de pan LG. Se pudo observar que los diferentes niveles de HS (0-20%), AP (0-15%) y volumen de agua (94-160%) incorporados en la formulación de pan LG presentaron un efecto significativo ($p < 0,05$) sobre el VE, dureza, cohesividad, elasticidad, cromaticidad y la luminosidad de la miga de pan LG. A partir de los resultados obtenidos, se pudo concluir que el reemplazo de HS y AP, así como el volumen de agua tuvieron un efecto significativo sobre los parámetros determinantes de la calidad de pan LG a base de harina de arroz, los cuales serán considerados para una futura optimización de la formulación.

Palabras clave: enfermedad celíaca, pan libre de gluten, harina de soja, almidón de mandioca pre-gelatinizado.

Abstract

The objective of the present work was to evaluate the effect of different levels of replacement of a mixture based on flour, semolina and bran of rice Gurí INTA CL by soybean flour (HS) and pre-gelatinized cassava starch (AP), and the volume of water in the dough; on the quality of gluten free bread (GF). A Box-Behnken design with three independent variables and three levels was used. The variables studied were the specific volume (VE), the texture through a Texture Profile Analysis, and the color of the GF bread crumb. It was observed that the different levels of HS (0-20%), AP (0-15%) and water volume (94-160%) incorporated in the GF bread formulation had a significant effect ($p < 0.05$) on the VE, hardness, cohesiveness, elasticity, chromaticity and lightness of the GF bread crumb. From the results obtained, it was possible to conclude that replacement of HS and AP, and the volume of water presented a significant effect on the quality parameters determining of the GF bread based on rice flours, which will be considered for the future optimization of the formulation.

Keywords: celiac disease, gluten free bread, soybean flour, pre-gelatinized cassava starch.

1. Introducción

En Argentina, la enfermedad celíaca (EC) afecta al 1% de la población total; lo que convierte a esta patología en la enfermedad crónica intestinal más frecuente del país (MSAL, 2014). Esta patología es autoinmune y se manifiesta por la incapacidad del intestino delgado de tolerar algunos cereales con una secuencia específica del oligopéptido prolamina presentes en el trigo, avena, cebada y centeno (Mollakhalili Meybodi *et al.*, 2015). Hasta el momento, el único tratamiento seguro y eficaz para quienes padecen EC es mantener una dieta libre de gluten (LG) durante toda la vida. Si bien en los últimos años el mercado de alimentos LG ha crecido notablemente, el principal inconveniente para los celíacos es encontrar productos adecuados, ya sea por el precio, variedad, accesibilidad, calidad nutricional y/o características sensoriales (Capriles *et al.*, 2016).

Por otro lado, la elaboración de productos panificados LG plantea dos desafíos fundamentales: 1) mejorar el perfil nutricional de los panificados LG debido a que la mayoría de las harinas aptas para celíacos son refinadas, lo que significa que durante el procesamiento se pierden gran parte de vitaminas, minerales y fibra dietaria; 2) sobreponerse a los obstáculos tecnológicos ocasionados por la ausencia de gluten en la masa. En los panificados con harina de trigo, la red de gluten le confiere a la masa propiedades viscoelásticas únicas y de capacidad de retención de gases, teniendo un rol importante en la textura y apariencia final del producto (Renzetti *et al.*, 2008). Estas propiedades son difíciles de obtener en el pan LG, ya que tecnológicamente son pobres en volumen específico, tienen una miga blanda, menor color en la corteza y mayor tasa de envejecimiento (Mollakhalili Meybodi *et al.*, 2015). alguna de las estrategias más utilizadas para mejorar la calidad general del pan LG y obtener características similares a la red del gluten es agregar agentes espesantes, como por ejemplo almidones, gomas y/o derivados de celulosa (Ahmad Mir *et al.*, 2016; Mohammadi *et al.*, 2014). En este aspecto, es interesante evaluar la utilización de almidón de mandioca pre-gelatinizado que se caracteriza por gelificar en frío e incrementar la viscosidad del medio permitiendo una mejor retención de gases durante el proceso de fermentación de la masa.

Otra estrategia utilizada, es la de adicionar proteínas (proteínas del lacto suero, leche en polvo o aislados proteicos de soja) para mejorar las propiedades visco-elásticas de la masa ya que reducen la difusión de agua en la estructura y mejoran la retención de gases, logrando panificados con una miga suave y mejor color en la corteza (Nunes *et al.*, 2009; Kittisuban *et al.*, 2014; Masure *et al.*, 2016). La extracción de aceite a partir de oleaginosas como la

soja genera un subproducto o torta parcialmente desgrasada (expeller) que presenta elevado contenido de proteínas (>40%); convirtiéndose en una alternativa proteica no láctea y libre de lactosa para la formulación de panificados LG. Es de interés destacar que, muchos pacientes con EC padecen de intolerancia a la lactosa debido a la incapacidad de sintetizar lactasa en el epitelio intestinal dañado. Por otro lado, desde un punto de vista de sustentabilidad del proceso y aprovechamiento de subproductos agroindustriales, es de interés caracterizarlos y evaluar su potencial aplicación para la elaboración de panificados LG con características nutricionales mejoradas.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del reemplazo de una mezcla a base de harina, sémola y salvado de arroz (Gurí INTA CL) por harina de soja y almidón pre-gelatinizado, y el volumen de agua sobre la calidad de pan LG.

2. Materiales y métodos

2.1 Materiales

La harina, sémola y salvado de arroz fueron suministrados por la Cooperativa de Arroceros de Villa Elisa, Entre Ríos y provienen de la variedad de arroz Gurí INTA CL desarrollada por INTA EEA Concepción del Uruguay. El expeller de soja fue provisto por R-MIX, Urdinarrain, Entre Ríos; el mismo fue molido y tamizado para obtener la granulometría acorde a la mezcla. Los ingredientes hidroxipropil metilcelulosa (HPMC) K4M (Dow Chemical, USA), levadura (LEVEX, Argentina), sal (CELUSAL, Argentina), y azúcar (LEDESMA, Argentina) fueron de grado alimenticio.

2.2 Preparación del pan libre de gluten

Las diferentes proporciones de harina 45%, sémola 35% y salvado de arroz 20%, fueron establecidas previamente a partir de un diseño de mezclas (Genevois *et al.*, 2017). La base de la formulación se basó en 100 g de premezcla (harina:sémola:salvado), HPMC (1,5%), sal (2%), azúcar (5%) y levadura (1,5%). El reemplazo con HS y AP fue estudiado en 3 niveles, junto con el total del volumen de agua en la masa (**Tabla 1**). Los ingredientes secos fueron tamizados y mezclados durante un minuto en una batidora (Moulinex Planetaria) provista de un accesorio de amasado. Luego, se adicionó la levadura disuelta en el total del volumen de agua a 37 °C y la mezcla se amasó a velocidad mínima durante 2 minutos. La masa resultante se dividió en piezas de ~ 50,7±0,9 g que fueron colocadas en moldes de aluminio (diámetro de 35 mm, altura 65 mm) y llevadas a incubación a 37 °C durante 90

min. Luego, la masa fue horneada durante 30 min a 200 °C. Finalmente, el pan fue desmoldado y almacenado en bolsas de polipropileno provistas de cierre tipo Ziploc® durante 24 h.

2. 3 Volumen específico del pan libre de gluten

El volumen específico del pan libre de gluten fue determinado usando el método de desplazamiento de semillas (Método 10-05, AACC, 2000). Los resultados son expresados en cm³/g pan.

2. 4 Análisis del Perfil de Textura de la miga de pan libre de gluten

El análisis de la miga de pan se llevó a cabo utilizando un texturómetro INTRON modelo 3345 (USA) provisto de una punta de compresión de 45 mm. Las muestras fueron comprimidas en dos ciclos secuenciales hasta un 40% de deformación a una velocidad de 1,7 mm/seg. Los parámetros de dureza, cohesividad, adhesividad, elasticidad, gomosis y masticabilidad de la miga fueron calculados a partir de las curvas de fuerza (N) versus distancia (mm). El análisis se realizó en al menos 6 réplicas por cada sistema del diseño experimental, reportando el valor promedio ± desvío estándar (DE).

2. 5 Color de la miga del pan libre de gluten

La medición instrumental del color se realizó en el espacio CIE L*a*b* con un colorímetro (Minolta CM 600d, Japón), bajo el iluminante D65 y con un ángulo de observación de 2°. La luminosidad (L*) se utilizó para cuantificar la oscuridad/claridad (0-100), la coordenada a* para determinar el rojo/verde (+98,233; -86,183), y la coordenada b* para el amarillo/azul (+94,478; -107,857).

A partir de los parámetros a* y b* se calculó el valor de chroma (Chr) (Ecuación 1):

$$\text{Chr} = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (1)$$

2. 6 Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó el diseño de Box-Behnken con 3 factores (HS, AP y volumen de agua) y 3 niveles. El punto central del diseño (0, 0, 0) se realizó por triplicado para calcular la reproducibilidad del método (Tabla 1). Los niveles de los factores fueron seleccionados en base a pruebas previas.

La significancia estadística de los factores estimados para cada respuesta se analizó con un análisis de la varianza (ANOVA), considerando significativo un p≤0,05 con un nivel de confianza del 95%. La adecuación del modelo se evaluó a través del

coeficiente de determinación (R² >70%) y la prueba de falta de ajuste (p-valor ≥0,05).

El análisis de los resultados, generación de los Diagramas de Pareto Estandarizados y análisis estadístico de los resultados se llevó a cabo con el programa Statgraphics Centurion XV (V 2.15.06, 2007, USA).

Tabla 1. Matriz del diseño experimental con las variables independientes.

Sistemas	Almidón pre-gelatinizado	Harina de Soja	Vol. agua
	g	G	ml
1	15 (+1)	20 (+1)	127 (0)
2	0 (-1)	20 (+1)	127 (0)
3	7,5 (0)	20 (+1)	94 (-1)
4	0 (-1)	0 (-1)	127 (0)
5	0 (-1)	10 (0)	94 (-1)
6	15 (+1)	10 (0)	160 (+1)
7	7,5 (0)	0 (-1)	160 (+1)
8	7,5 (0)	0 (-1)	94 (-1)
9	15 (+1)	0 (-1)	127 (0)
10	0 (-1)	10 (0)	160 (+1)
11	15 (+1)	10 (0)	94 (-1)
12	7,5 (0)	20 (+1)	160 (+1)
13*	7,5 (0)	10 (0)	127 (0)
14*	7,5 (0)	10 (0)	127 (0)
15*	7,5 (0)	10 (0)	127 (0)

Valores expresados en porcentaje de reemplazo en 100 g de premezcla (harina, sémola y salvado de arroz).

* Sistemas centrales (0, 0, 0) del diseño experimental.

3. Resultados y Discusión

Los resultados de volumen específico, textura y color se encuentran detallados en la Tabla 2.

Tabla 2. Matriz del diseño experimental con los resultados de las variables respuestas.

#	VE cm ³ /g	Textura			Color	
		Dureza N	Cohesividad	Elasticidad	Chr	L*
1	1,2±0,1	23±3	0,22±0,04	0,83±0,04	26,7±0,2	66,6±0,2
2	1,6±0,2	23±2	0,28±0,06	0,83±0,02	26,3±0,3	67,8±0,1
3	1,6±0,1	60±9	0,20±0,06	0,70±0,09	26,9±0,3	67,7±0,3
4	2,0±0,1	25,9±0,4	0,31±0,01	0,90±0,05	23,7±0,8	69,7±0,2
5	2,0±0,2	38±4	0,20±0,04	0,85±0,04	26,8±0,6	67,8±0,3
6	2,2±0,2	10±1	0,32±0,03	0,83±0,03	24,4±0,1	68±1
7	2,5±0,4	7,6±0,9	0,38±0,03	0,87±0,06	22,1±0,4	72,1±0,8
8	2,7±0,2	23±1	0,15±0,02	0,8±0,1	24,6±0,1	66,6±0,4
9	2,1±0,3	16±1	0,26±0,02	0,79±0,01	23,3±0,4	70,4±0,3
10	2,55±0,07	8±1	0,28±0,03	0,75±0,04	24,0±0,5	69±1

11	2,2±0,1	43±4	0,18±0,01	0,60±0,02	26,5±0,4	68,7±0,5
12	2,3±0,3	18±2	0,23±0,03	0,76±0,07	25,9±0,3	67,3±0,3
13*	2,3±0,2	23±5	0,23±0,04	0,73±0,01	24,8±0,6	66,6±0,9
14*	2,2±0,2	17±1	0,30±0,05	0,78±0,04	25,2±0,5	67,5±0,6
15*	2,3±0,1	16,2±0,4	0,28±0,04	0,78±0,03	24,8±0,3	66,7±0,9

VE: volumen específico. *Sistemas centrales (0, 0, 0) del diseño experimental.

3.1 Efecto de la HS, AP y volumen de agua sobre el volumen específico del pan libre de gluten

Los volúmenes específicos (VE) del pan LG de los sistemas que conformaron el diseño experimental presentaron valores entre 1,2-2,7 cm³/g (Tabla 2). En la Figura 1 se muestra el Diagrama de Pareto Estandarizado para el VE del pan LG con los efectos estimados en orden decreciente de importancia (R²: 99,74%; falta de ajuste p-valor: 0,3555). Los términos lineales y cuadráticos de la HS y AP presentaron un efecto significativo (p<0,05) y negativo sobre el VE del pan LG. Mientras que, el término lineal y cuadrático del volumen de agua presentó un efecto significativo (p<0,05) y positivo sobre el VE de pan. El mismo sugiere que a mayor volumen de agua en la masa del pan LG se obtendrá mayor VE. Asimismo, el término interacción entre la HS y el volumen de agua presentó un efecto sinérgico (p<0,05) sobre esta variable respuesta. Por lo tanto, a mayor concentración de HS y volumen de agua en la formulación se obtendrá un mayor VE en el pan resultante.

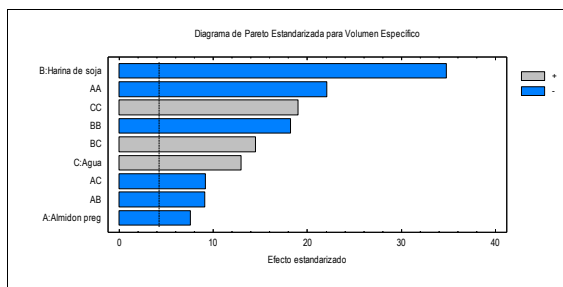


Figura 1. Diagrama de Pareto Estandarizado para Volumen Específico

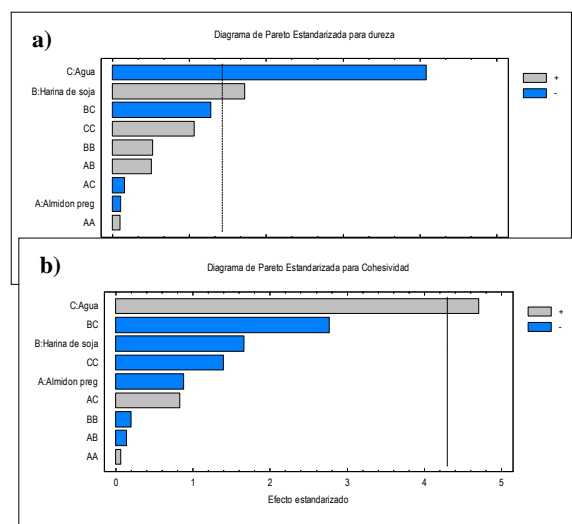
3.2 Efecto de la HS, AP y volumen de agua sobre la textura de la miga del pan libre de gluten

La dureza es un parámetro mecánico textural que representa la fuerza máxima requerida para comprimir entre los molares un alimento sólido o entre la lengua y el paladar un alimento semisólido (ISO 5492, 2012). Los valores de

dureza presentaron valores entre 7,61-60 (N) (Tabla 2). En la Figura 2a, se muestra el Diagrama de Pareto Estandarizado para la dureza del pan LG. El R² obtenido fue 89,87% y la falta de ajuste presentó un p-valor de 0,1264. Se pudo observar que el coeficiente lineal del volumen de agua afectó de forma significativa (p<0,05) y negativa la dureza de la miga de pan LG. Mientras que, el coeficiente lineal de la HS tuvo un efecto positivo (p<0,05) sobre este parámetro. Por lo tanto, se podría inferir que a mayor concentración de agua en la formulación se reduciría la dureza de la miga de pan LG.

La cohesividad se define como la extensión en que un alimento puede ser deformado antes de su ruptura, y depende de la fuerza de los enlaces internos que mantiene la estructura en el alimento (ISO 5492, 2012). En el diagrama de Pareto Estandarizado se pudo observar que el término lineal del volumen de agua fue el único factor que afectó de forma significativa (p<0,05) y positiva la cohesividad (Figura 2b) (R²: 90,33%; falta de ajuste p-valor: 0,6648). Este efecto estimado del volumen de agua sobre la cohesividad sugiere que a medida que se incrementa el agua se logra recuperar en mayor medida la forma original de la miga de pan al retirar la fuerza de compresión.

Otro parámetro de textura obtenido a partir del Perfil de Textura fue la elasticidad, que se refiere a la capacidad que tiene una muestra deformada en recuperar su forma o longitud original después de retirar la fuerza de deformación (ISO 5492, 2012). Los valores de elasticidad de las sistemas del diseño presentaron valores entre 0,696-0,898 (Tabla 1). En la Figura 2c, se muestra el Diagrama de Pareto Estandarizado para la elasticidad (R²: 92,56%; falta de ajuste p-valor: 0,4021). Se observó que la interacción entre el AP y el volumen de agua presentó un efecto significativo (p<0,05) y sinérgico sobre esta variable de estudio.



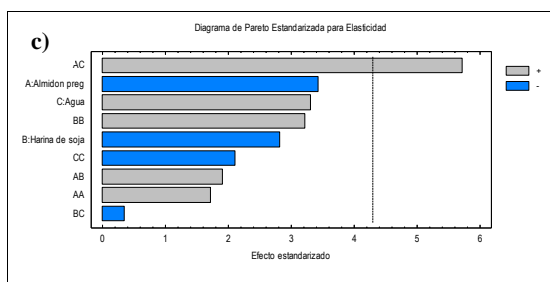


Figura 2. Diagrama de Pareto Estandarizado para a) Dureza, b) Cohesividad, y c) Elasticidad.

3.3 Efecto de la HS, AP y el agua sobre el color de la miga del pan

La cromaticidad (Chr) expresa la saturación del color en un alimento. Los valores de Chr de la miga de pan LG presentaron rangos de valores entre 22,1-26,9 (Tabla 2). En la Figura 3a del Diagrama de Pareto Estandarizado para Chr se puede observar que el coeficiente del término lineal de la HS presentó un efecto significativo ($p < 0,05$) y positivo sobre la intensidad del color de la miga de pan LG. Mientras que, el término lineal del volumen de agua afectó de forma negativa ($p < 0,05$) el Chr, posiblemente debido a un efecto de dilución de la HS en la formulación. Es decir que, a mayor porcentaje de incorporación de HS y menor volumen de agua en la formulación se obtendría mayor intensidad del color en la miga del pan LG. El R^2 obtenido fue 98,89% y la falta de ajuste presentó un p-valor de 0,4579.

El Diagrama de Pareto Estandarizado para la Luminosidad (L^*) se muestra en la Figura 3b (R^2 : 92,56%; falta de ajuste p-valor: 0,4021). Consecuentemente con el Chr, la L^* de la miga de pan LG fue afectada significativamente ($p < 0,05$) y de forma negativa por el coeficiente del término lineal de la HS. Asimismo, el coeficiente del término interacción entre la HS y el volumen de agua presentó un efecto antagónico ($p < 0,05$) sobre la L^* . Por lo tanto, a mayor contenido de HS en la formulación, la luminosidad decrece (se oscurece la miga) al reducir el volumen de agua y esta tendencia se revierte a bajas concentraciones de HS.

El resto de los factores no presentaron efectos significativos sobre el Chr y la L^* en las condiciones ensayadas en el presente trabajo.

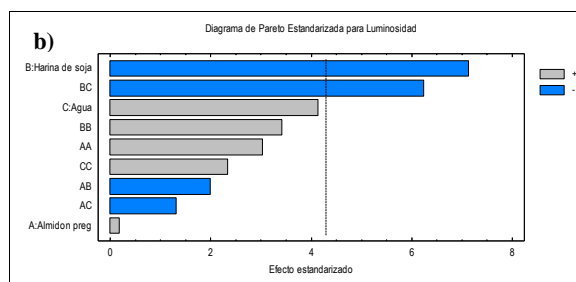
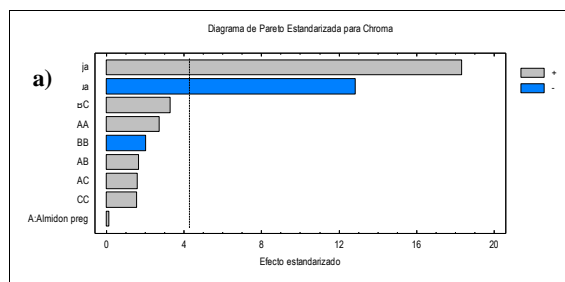


Figura 3. Diagrama de Pareto Estandarizada para a) Cromaticidad y b) Luminosidad.

Conclusiones

A partir del diseño experimental se pudo observar que la incorporación de HS, AP y volumen de agua en la formulación mostró un efecto significativo sobre el VE, dureza, cohesividad, elasticidad, cromaticidad y luminosidad de la miga de pan LG a base harinas de arroz. Los resultados del presente trabajo permitieron conocer los efectos estimados mediante Diagramas de Pareto Estandarizados y, por lo tanto, serán considerados en una futura optimización de la formulación de pan LG a base de harinas de arroz Gurí INTA CL.

4. Referencias

- Ahmad Mir, S.; Ahmad Shah, M.; Rashid Naik, H.; Ahmad Zargar, I. (2016). *Influence of hydrocolloids on dough handling and technological properties of gluten-free breads*. Trends in Food Science & Technology, 51, 49–57.
- Capriles, V. D.; dos Santos, F. G.; Arêas, J. A. G. (2016). *Gluten-free breadmaking: Improving nutritional and bioactive compounds*. Journal of Cereal Science, 67, 83–91.
- Genevois, C.; Melchiori, M.C.; Levin, G.; de Escalada Pla, M. (2017). *Efecto de las proporciones de distintas fracciones de la molienda de arroz en la calidad de panificados libres de gluten*. II Congreso de Bromatología y nutrición, Facultad de Bromatología, Universidad Nacional de Entre Ríos.

ISO 5492:2012. Sensory Analysis – Vocabulary.

Kittisuban, P.; Ritthiruangdej, P.; Suphantharika, M. (2014). *Optimization of HPMC, yeast β -glucan, and whey protein levels based on physical properties of gluten-free rice bread using response surface methodology*. LWT - Food Science and Technology, 57(2), 738–748.

Masure, H. G.; Fierens, E.; Delcour, J. A. (2016). *Current and forward looking experimental approaches in gluten-free bread making research*. Journal of Cereal Science, 67, 92–111.

Mohammadi, M.; Sadeghnia, N., Azizi, M.-H.; Neyestani, T. R.; A.M., M. (2014). *Development of gluten-free flat bread using hydrocolloids: Xanthan and CMC*. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, (20), 1812–1818.

Mollakhalili Meybodi, N.; Mohammadifar, M. A.; Feizollahi, E. (2015). *Gluten-Free Bread Quality: A Review of the Improving Factors*. Journal of Food Quality and Hazards Control, 2, 81–85.

Montgomery, D. C. (2008). *Design and analysis of experiments*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.

MSAL Ministerio de Salud de la Presidencia de la Nación (2014). Protocolo para la detección precoz de la EC. Disponible en: www.msal.gob.ar/celiacos/pdf/protocolo-para-deteccion-precoz.pdf

Nunes, M. H. B.; Ryan, L. A. M.; Arendt, E. K. (2009). *Effect of low lactose dairy powder addition on the properties of gluten-free batters and bread quality*. European Food Research and Technology, 229(1), 31–41.

Renzetti, S.; Dal Bello, F.; Arendt, E. K. (2008). *Microstructure, fundamental rheology and baking characteristics of batters and breads from different gluten-free flours treated with a microbial transglutaminase*. Journal of Cereal Science, (48), 33–45.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Cooperativa de Arroceros Villa Elisa, la empresa R-Mix S.R.L., ACELA Entre Ríos, y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

36TCA. Modelado matemático simultáneo del contenido de humedad, temperatura y calidad en función del tiempo para laminados de rosa mosqueta deshidratados al vacío.

Simultaneous mathematical modelling of moisture content, temperature and quality as a function of time for vacuum dried rosehip leathers.

Silvana Demarchi^{1,2}, R. Martín Torrez Irigoyen^{1,2}, Claudio Reyes¹, Sergio A. Giner^{1,3,4}.

1. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA), CONICET-CIC, Universidad Nacional de La Plata, 47 y 116 La Plata (B1900 AJJ), Argentina.
2. Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, 1 y 47 La Plata, Argentina.
3. Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de La Plata, 1 y 47 La Plata, Argentina.
4. Comisión de Investigaciones Científicas (CIC), Provincia de Buenos Aires, 526 e/ 10 y 11, La Plata, Argentina.

silvanademarchi@hotmail.com

Resumen

Se determinaron las cinéticas de secado, historias térmicas y cinéticas de calidad para dos formulaciones a base de rosa mosqueta, diseñadas para la obtención de laminados (leathers) por secado al vacío, a temperaturas de bandeja entre 40 y 70 °C. Los datos se modelaron simultáneamente aplicando un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias, que comprenden un balance microscópico de materia, un balance macroscópico de energía y una ecuación de cinética de calidad de orden variable, acoplada con la transferencia de calor y materia. Se ajustó un conjunto de parámetros para cada formulación, obteniéndose representaciones satisfactorias de los datos experimentales. Las formulaciones presentaron diferencias en su velocidad de secado y cinéticas de calidad, para idénticas historias térmicas. El efecto de la temperatura de bandeja sobre la pérdida de calidad fue compensado por la diferente velocidad de secado, por lo que el proceso a 70 °C generó, en menor tiempo, laminados de rosa mosqueta de igual calidad que los obtenidos a menores temperaturas. En particular, se encontró que el orden de reacción para la degradación del ácido ascórbico depende de la temperatura de bandeja.

Palabras clave: Rosa mosqueta, Secado al vacío, Calidad, Modelado matemático.

Abstract

Vacuum drying kinetics, thermal histories and quality kinetics of two rosehip leather formulations were determined, at tray temperatures between 40 and 70°C. Data was simultaneously modelled as an ordinary differential equations system encompassing a transient water balance, a transient energy balance, and a variable-order quality kinetics equation, coupled to heat and mass transfer. A set of parameters was fitted for each formulation and satisfactory representations of the experimental data were obtained. The formulations showed different drying and quality kinetics but the same thermal histories. Differences in drying rate compensated for the effect of the tray temperature on quality loss, so vacuum drying at 70 °C led, in shorter time, to rosehip leathers with the same quality retention as that for products obtained at lower temperatures. In particular, the reaction order for ascorbic acid degradation was found to be dependent on the tray temperature.

Keywords: Rosehip leather, Vacuum drying, Quality, Mathematical modelling.

1. Introducción

En la industria de los alimentos, las frutas y verduras generalmente se procesan mediante secado (Lusas y Rooney, 2001). Hoy en día, la idoneidad de los métodos de secado depende de la calidad, por lo que el secado al vacío, que presumiblemente reduce los tiempos de procesamiento y permite reducir la exposición al oxígeno, puede representar una técnica adecuada para desarrollar snacks ricos en vitaminas con alto contenido de sólidos naturales de frutas. En este trabajo, se aplicó el secado al vacío para obtener laminados de rosa mosqueta, que son snacks saludables e incluso productos funcionales, con un alto contenido de ácido ascórbico (AA) naturalmente presente en los frutos de rosa mosqueta.

La deshidratación de los alimentos implica fenómenos simultáneos de transferencia de calor y materia, que ocurren junto con cambios físicos y químicos en matrices de estructura y composición complejas. En este sentido, el modelado matemático de los datos experimentales obtenidos durante el proceso es importante para comprender, predecir y comparar dichos fenómenos para diferentes matrices y condiciones de secado. El objetivo de este trabajo fue realizar un estudio detallado del secado al vacío de dos formulaciones para laminados de rosa mosqueta, determinando y modelando simultáneamente las cinéticas de secado, las historias térmicas y las cinéticas de degradación de AA (como índice de calidad) en cada formulación. También se evaluó el efecto de la temperatura de bandeja, que se varió entre 40 y 70 °C.

En contraste con lo que ocurre en alimentos con bajo contenido de humedad, como semillas, oleaginosas o cereales, en los que la transferencia de calor es considerablemente más rápida que la transferencia de masa, para las frutas y verduras u otros productos con alto contenido de humedad, es indispensable determinar su historia térmica, ya que su temperatura está considerablemente alejada del valor asintótico de la temperatura de bandeja durante la mayor parte del proceso, especialmente en condiciones de vacío parcial que limitan la velocidad de transferencia de calor. Con respecto al contenido de humedad, el uso de modelos teóricos con antecedentes físicos proporciona información útil para describir los mecanismos de secado, así como en problemas más aplicados, como la predicción de tiempos de proceso, que está relacionada con el diseño de secadores (Ratti, 2001; Crapiste y Rotstein, 1997). Sin embargo, estos modelos no siempre proporcionan buenas predicciones en el secado al vacío (Richter Reis, 2014), por lo que muchos autores los utilizan para determinar los parámetros de transferencia de masa, aunque luego aplican modelos empíricos para predecir el contenido de humedad en función del tiempo (Ashraf *et al.*, 2012; Jena y Das, 2007; Amellal y

Benamara, 2008; Lee y Kim, 2009). Con respecto a la degradación de AA bajo condiciones de vacío, usualmente se aplican ecuaciones de cinética de primer y segundo orden (Santos y Silva, 2008; Singh *et al.*, 1976; Lin y Agalloco, 1979). En el caso de los procesos de secado, en los que tanto el contenido de humedad como la temperatura del producto varían con el tiempo, la complejidad para determinar los parámetros cinéticos de calidad es mucho más alta que en condiciones isotérmicas y de contenido de humedad constante. Por este motivo, el desafío de este trabajo fue utilizar modelos de transferencia de calor y materia junto con un modelo de predicción de calidad que dependerán unos de otros (ecuaciones acopladas), para describir los fenómenos que ocurren durante el secado al vacío de formulaciones para laminados de rosa mosqueta. El modelado de la cinética de degradación de AA considerando las variaciones simultáneas del contenido de humedad y la temperatura, sería una herramienta valiosa para explicar los resultados experimentales y para predecir las variaciones de calidad en diferentes condiciones de secado.

2. Materiales y métodos

2.1. Procesamiento de los frutos

Frutos maduros de rosa mosqueta (*Rosa rubiginosa* L., sin. *Rosa eglanteria* L.) cosechados en El Bolsón, Provincia de Río Negro, Argentina, se hirvieron durante 30 minutos en una paila, agregando 0,2 kg de agua potable por kg de fruta fresca. Los frutos ablandados se procesaron con una máquina pulpadora y se pasaron a través de un tamiz de 0,5 mm para eliminar las semillas y material no comestible. Se obtuvo una pulpa homogénea que se concentró por evaporación a 14 °Brix. Luego, la pulpa (contenido de humedad promedio de 85,4 % (p/p) o 5,85 decimal, base seca) se enfrió, se congeló y se almacenó a -20 °C hasta su uso.

2.2. Formulaciones de rosa mosqueta

Las dos formulaciones aquí estudiadas derivan de otras descritas en un trabajo previo (Demarchi *et al.*, 2014), que fueron mejoradas mediante un aumento en su contenido de sólidos de fruta y en su dulzor, basado en pruebas sensoriales (datos no publicados). Para preparar una formulación con sacarosa agregada (FSac) y otra con povidexrosa (FPol), la masa de pulpa de rosa mosqueta requerida para todos los experimentos se descongeló a 4 °C, se homogeneizó y se dividió en dos porciones, cada una de ellas combinada con los ingredientes sólidos, tal como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición de las formulaciones.

Ingredientes (% p/p)	Formulación	
	FSac	FPol
Pulpa	77,95	77,92
Sacarosa	21,00	---
Polidextrosa	---	21,00
Ácido cítrico	1,00	1,00
Sucralosa	0,05	0,08

Se utilizó sacarosa comercial (azúcar blanca refinada Chango Premium, Tabacal Agroindustria, Argentina) obtenida en un mercado local. La polidextrosa (polidextrosa en polvo Winway I) y la sucralosa (sucralosa micronizada Splenda) fueron proporcionados por Tate & Lyle (Reino Unido). Se usó ácido cítrico de Cicarelli (Argentina). Los ingredientes se homogeneizaron con una batidora eléctrica de mano (Braun Multiquick Advantage, MR4050, 400 W, España). Luego, las formulaciones se mantuvieron en frascos herméticos a 4 °C durante 24 h, hasta ser deshidratadas.

2.3. Condiciones de secado

Se utilizó una estufa de vacío (Arcano, China) conectada a una bomba de vacío de diafragma (Vacubrand PC 500 Series - CVC 3000, Alemania). La presión y la temperatura durante el secado fueron controladas automáticamente por un sistema digital. Las formulaciones añadidas con sacarosa y polidextrosa se deshidrataron a una presión absoluta de 5 kPa y temperaturas de bandeja de 40, 50, 60 y 70 °C. Para facilitar el muestreo, las formulaciones se distribuyeron en placas de Petri plásticas (0,048 m de diámetro interno). Se determinó la masa inicial (0,012 kg exactamente pesados por placa de Petri) para lograr un espesor inicial de 0,006 m, requerido para obtener laminados de 0,002 m de espesor, de acuerdo con datos publicados anteriormente (Leiva Díaz *et al.*, 2009).

2.4. Diseño experimental

Se registraron tres variables dependientes: contenido de humedad (W), temperatura (T) y contenido de ácido ascórbico (Q) del producto a lo largo del secado al vacío, para modelar y comparar su variación en el tiempo (t) para las diferentes formulaciones y temperaturas de secado. Para asegurar un diseño aleatorizado con datos representativos, ambas formulaciones se procesaron al mismo tiempo en cada ciclo de secado, realizando ensayos duplicados para cada temperatura de bandeja, por lo que se realizaron ocho experimentos de secado. Las variables dependientes se midieron a tiempos fijos durante 8 h de secado: cada 30 minutos durante las primeras dos horas, y luego cada 60

minutos. Se determinaron cuatro réplicas de W vs t , T vs t y Q vs t para cada formulación y temperatura de bandeja.

2.5. Determinación del contenido de humedad y la temperatura del producto en función del tiempo

En los tiempos de muestreo fijados, se retiraron de la estufa muestras de FSac y FPol, interrumpiendo el vacío durante unos segundos, para determinar su contenido de humedad mediante pesada, asumiendo materia seca constante. Después de registrar su masa, las muestras se cubrieron y sellaron con papel Parafilm® y se almacenaron a -80 °C para la posterior determinación del contenido de ácido ascórbico (AA). En dos muestras de cada formulación elegidas al azar, las cuales no fueron retiradas de la estufa, se fijaron termocuplas para registrar la historia térmica del producto. Los datos de contenido de humedad obtenidos por diferencias de peso se verificaron mediante el método AOAC 984.25 (AOAC, 1998) en las muestras almacenadas, en el momento de tomar las alícuotas para la cuantificación de AA. El contenido inicial de humedad (W_0) y la temperatura inicial (T_0) se midieron en ambas formulaciones inmediatamente antes del inicio de cada tanda de secado, mientras que el contenido inicial de AA (Q_0) se determinó en alícuotas del material fresco que fueron selladas y almacenadas a -80 °C con el resto de las muestras.

2.6. Determinación del contenido de ácido ascórbico en función del tiempo

Las muestras almacenadas a -80 °C se retiraron del freezer y se mantuvieron selladas hasta alcanzar la temperatura ambiente. Luego se abrieron, se homogeneizaron (aquellas que no gelificaron) y se tomaron alícuotas para la verificación del contenido de humedad y para la cuantificación del ácido ascórbico (AA) por HPLC. Se aplicó una metodología adaptada de Kafkas *et al.* (2006) y Nojavan *et al.* (2008). El analito se extrajo dispersando 0,5 g de muestra en 2,5 ml de solución de ácido metafosfórico (HPO_3) al 5% (p/v). La dispersión se centrifugó a 4 °C y 15000 rpm durante 15 minutos para recuperar el sobrenadante. Se utilizó una columna RP C18 (250 x 4,6 mm) acoplada con una precolumna RP C18 (20 x 4,6 mm), ambas de Spherical, Optimals ODS-H, Capital HPLC (Reino Unido) y un detector UV-Visible (longitud de onda de detección: 245nm). La fase móvil consistió en una mezcla de ácido metafosfórico al 0,5% (p/v) y acetonitrilo, en una proporción de 93:7. La elución isocrática se realizó a 25 °C utilizando un caudal de 1 ml/min, con un volumen de inyección de 20 μ l. Para la curva de calibración se empleó ácido L-ascórbico de calidad HPLC ($C_6H_8O_6$) disuelto en fase móvil,

obteniéndose una correlación lineal entre el área del pico y la concentración del analito en un rango de 5 a 200 mg/l. Los resultados se expresaron en mg de AA/g de materia seca.

2.7. Modelado matemático

Para modelar simultáneamente las variaciones de humedad, temperatura y contenido de AA durante el secado, se requiere resolver un sistema de ecuaciones diferenciales acopladas. En primer lugar, para describir la cinética de secado se consideró la migración del agua por difusión en una geometría de placa plana. Dadas las condiciones de vacío aplicadas, prácticamente se anula la resistencia externa a la transferencia de masa y, considerando esto, se trabajó con la Ec. (1), que es la solución analítica de la ecuación de difusión no estacionaria, integrada en el espesor de la lámina (Crank, 1975). Esta expresión predice la variación de la humedad W (kg agua/kg masa seca) en función del tiempo t (s) en condiciones de control interno estricto a la transferencia de masa:

$$W_{ad} = \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp\left(-\frac{(2n+1)^2 \pi^2}{4} \frac{Dt}{e_0^2}\right) \quad (1)$$

siendo

$$W_{ad} = (W - W_e)/(W_0 - W_e) \quad (1.1)$$

Aquí se expresa la humedad adimensionalizada W_{ad} y se considera una humedad media W en la lámina, de espesor e_0 (m). W_0 y W_e representan las humedades inicial y de equilibrio respectivamente, mientras que D (m²/s) es el coeficiente medio de difusión de Fick. Para modelar los datos experimentales se utilizaron 10 términos de la Ec. (1) y se consideró $W_e = 0$, por lo que la expresión resultó:

$$W = W_0 \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^9 \frac{1}{(2n+1)^2} \exp\left(-\frac{(2n+1)^2 \pi^2}{4} \frac{Dt}{e_0^2}\right) \quad (2)$$

A partir de la Ec. (2) se obtiene la siguiente ecuación diferencial:

$$\frac{dW}{dt} = W_0 \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^9 \frac{1}{(2n+1)^2} \exp\left(-\frac{(2n+1)^2 \pi^2}{4} \frac{Dt}{e_0^2}\right) \dots \left(-\frac{(2n+1)^2 \pi^2}{4} \frac{D}{e_0^2}\right) \quad (3)$$

A su vez, el coeficiente de difusión D se relacionó con la temperatura mediante una función tipo Arrhenius (Ec. (4)):

$$D = D_0 \exp\left(-\frac{E_a}{R(T_b+273,15)}\right) \quad (4)$$

donde D_0 (m²/s) es el factor preexponencial, E_a (J/mol) es la energía de activación del secado,

$R=8.314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ es la constante universal de los gases y T_b (°C) es la temperatura de bandeja. Las Ecuaciones (2) y (3) son funcionalmente adecuadas porque la posible reducción de D con la humedad (que no se considera) se compensa con la contracción de tamaño (que tampoco se incluye en el modelo), de tal modo que la relación D/e_0^2 se mantiene aproximadamente constante (Torrez Irigoyen y Giner, 2014).

Para modelar las historias térmicas de las muestras se utilizó el balance macroscópico de energía (Ec. (5)), que describe la velocidad de variación de la temperatura media del producto T (°C):

$$\frac{dT}{dt} = \frac{h_{eff}}{\rho_{s0} c_p e_0} (T_b - T) - \frac{L_w}{c_p} \left(-\frac{dW}{dt}\right) \quad (5)$$

En esta ecuación diferencial, h_{eff} (W / m² °C) representa un coeficiente efectivo de transferencia de calor entre el producto y el equipo, ρ_{s0} (kg/m³) es la masa seca referida al volumen inicial, mientras que c_p (J/kg de masa seca °C) es el calor específico del producto y L_w (J/kg), el calor de vaporización del agua. Se consideraron aquí las siguientes expresiones:

$$\rho_{s0} = \rho_F / (1 + W_0) \quad (5.1)$$

donde ρ_F es la densidad de la formulación, cuya humedad es W_0

$$C_p = 837,4 + 4187 W \quad \text{para } W > 0,7 \quad (5.2)$$

$$C_p = 1637 + 3567 W \quad \text{para } W \leq 0,7 \quad (5.3)$$

$$L_w = 2,49 \times 10^6 - 1953 T \quad (5.4)$$

Las expresiones del C_p se tomaron de Mohsenin (1980), mientras que los coeficientes de la Ec. (5.4) se basaron en la ecuación de Kiefer para la correlación de presión de saturación líquido-vapor para el agua (Giner, 2001).

Por último, se aplicó un modelo cinético de orden variable (Ec. (6)) para predecir la variación del contenido de AA durante el secado:

$$-\frac{dQ}{dt} = k Q^n \quad (6)$$

donde $-dQ/dt$ representa la velocidad de degradación del AA, siendo Q su concentración al tiempo t expresada en mg AA/g masa seca. Se consideró una constante cinética k afectada por la humedad (W) y la temperatura del producto (T), y un orden de reacción n dependiente de la temperatura de bandeja (T_b), tal que:

$$-\frac{dQ}{dt} = k_0 \exp\left(-\frac{E_{aq}}{R(T+273,15)}\right) Q^{(n_1+n_2 T_b)} \quad (6.1)$$

donde E_{aq} (J/mol) es la energía de activación para la pérdida de calidad, $R=8.314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ es la constante universal de los gases, y k_0 (s^{-1}) es el factor preexponencial, que representa la frecuencia de colisión molecular y se considera aquí relacionado con la humedad mediante la Ec. (6.2):

$$k_0 = k_1 + k_2 W \quad (6.2)$$

2.8. Método de ajuste

El ajuste de los parámetros de las ecuaciones diferenciales implica un problema inverso, que no puede resolverse por los métodos convencionales de ajuste de parámetros para ecuaciones integrales. En este trabajo, tanto el proceso de integración del sistema de ecuaciones diferenciales, como el de optimización de los parámetros, se realizaron mediante el software *OptiPa* (Hertog *et al.*, 2007). El objetivo fue la determinación de los parámetros D_0 , E_a , h_{eff} , k_1 , k_2 , E_{aq} , n_1 y n_2 mediante ajuste por cuadrados mínimos, entre los valores predichos integrados numéricamente (Ec. (3) a (6.2)) y todo el conjunto de datos experimentales de cada formulación (W , T y Q en función de t para las cuatro temperaturas de bandeja). Al resolverse los modelos en forma simultánea, el criterio de ajuste fue minimizar la suma de residuos al cuadrado (SRC) combinada, es decir, la sumatoria de las SRC para el contenido de humedad, la temperatura y el contenido de AA, cada una ponderada por la inversa de la varianza de los datos experimentales correspondientes (Torrez Irigoyen y Giner, 2017). El procedimiento de cálculo es el siguiente: dados los valores iniciales ($t = t_0$, $W = W_0$, $T = T_0$, $Q = Q_0$), y valores iniciales para los ocho parámetros a ajustar, los cálculos comienzan a $t = t_0$. La velocidad de secado ($-dW/dt$) estimada con la Ec. (3), se utiliza en el balance macroscópico de energía (Ec. (5)) para determinar dT/dt . Los valores de W , T y Q se utilizan para calcular dQ/dt mediante la Ec. (6). El sistema de ecuaciones diferenciales se resuelve numéricamente mediante la función *ode 23s*, para obtener valores de W , T y Q en el valor siguiente de tiempo. Esta secuencia se repite para tiempos crecientes hasta alcanzar la duración del experimento ($t_f = 28800 \text{ s}$). Allí se tienen las curvas predichas y experimentales: W vs t , T vs t y Q vs t , con lo cual el software calcula la SRC combinada. En función de dicho valor, se pone en funcionamiento un programa de optimización *lsqnonlin*, que va estimando nuevos valores de los parámetros a partir de los valores anteriores y la SRC combinada, resolviendo un sistema de ecuaciones no lineales. Con los nuevos valores se inicia otro proceso de integración seguido de optimización, y el algoritmo combinado se repite hasta que la SRC entre los valores experimentales y calculados alcanza un valor mínimo.

2.9. Análisis estadístico

Los datos fueron analizados con el software *Origin* (Origin, 2009). Para evaluar el efecto de las formulaciones y las temperaturas de bandeja sobre la cinética de secado, historia térmica y cinética de calidad, se aplicó una prueba F para comparación de sets de datos (función *fitcmpdata*), la cual permite contrastar curvas completas para diferentes tandas de secado. Además se compararon datos a tiempos específicos de secado mediante Análisis de Varianza (ANOVA) bifactorial. Para la comparación de valores medios se utilizó el test de Tuckey.

3. Resultados y Discusión

3.1. Datos experimentales

En la Fig. 1 puede verse la evolución de la humedad, temperatura y contenido de AA durante el secado al vacío en ambas formulaciones, a distintas temperaturas de bandeja.

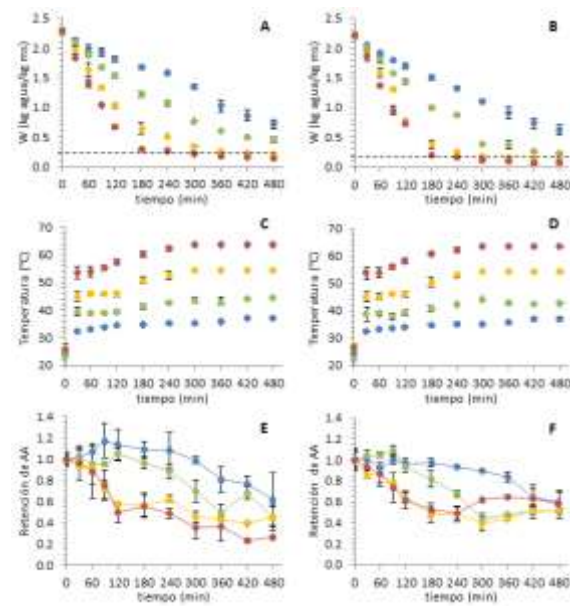


Figura 1. Variación del contenido de humedad (A, B), temperatura (C, D) y retención de ácido ascórbico (E, F) durante el secado de las formulaciones de sacarosa (izq) y polidextrosa (der). Se grafican los valores medios \pm su desvío estándar para temperaturas de bandeja de 40°C (●), 50°C (■), 60°C (▲) y 70°C (◆).

Puede observarse en las Figuras 1.A y 1.B que la velocidad de secado aumenta con la temperatura de bandeja (T_b) y que es, en todos los casos, mayor para FPoL. Los contenidos de humedad alcanzados luego de 8 horas de proceso difirieron significativamente según la T_b y la formulación (ANOVA bifactorial, $\alpha=0.05$). Sólo a 60 y 70 °C se logró alcanzar la humedad final del producto (correspondiente a una

aw de 0,6), indicada en las Figuras 1.A y 1.B con una línea horizontal punteada (0,23 kg agua/kg masa seca en FSac y 0,17 kg agua/kg masa seca en FPol). Sin embargo, los datos obtenidos a 40 y 50 °C proporcionaron información esencial en un rango de temperatura adecuado para realizar estudios cinéticos y ajustar parámetros relevantes como las energías de activación para el secado y para la pérdida de calidad.

Las historias térmicas (Figuras 1.C y 1.D) muestran una forma característica, con un ascenso rápido de temperatura en los primeros 60 minutos, seguido de un corto período de estabilización, pasando luego por un punto de inflexión y un ascenso hasta alcanzar un valor máximo, que no cambia durante los últimos 120 minutos. Dichos valores máximos están considerablemente alejados de T_b y la diferencia aumenta con T_b . Si se comparan las formulaciones para una misma T_b , sus historias térmicas no difieren (test F para comparación de sets de datos, $\alpha=0,05$). Es decir que, a pesar de alcanzar las mismas temperaturas en los mismos tiempos, FPol se deshidrata más rápido que FSac, lo cual sugiere un efecto de la composición, en particular del tipo de sacárido presente en la matriz y su grado de interacción con el agua.

Con respecto a la retención nutricional (expresada en relación al valor inicial de concentración de AA en base seca), puede observarse que disminuye más rápido para mayores T_b (Figuras 1.E y 1.F). Sin embargo, la retención media de AA luego de 8 horas de proceso (0,53) es la misma para cualquier T_b y formulación, siendo menor (0,27) sólo para FSac a 70 °C (test de Tukey, $\alpha=0,05$). Otros autores que han investigado la degradación de AA en rosa mosqueta, han encontrado que los tratamientos térmicos largos (entre 8 y 24 h) en el rango de temperatura de 50 a 90 °C, resultan en valores similares de retención, alrededor del 50 % (Erenturk *et al.*, 2005; Pirone *et al.*, 2007).

3.2. Resultados del modelado matemático

Se ajustó un conjunto de parámetros para cada formulación, obteniéndose representaciones satisfactorias de su humedad, temperatura y contenido de AA durante el secado al vacío entre 40 y 70 °C. Para las temperaturas de bandeja de 40 y 50 °C se modelaron todos los datos experimentales de Q vs t , mientras que para 60 y 70 °C, por cuestiones prácticas, sólo se modeló hasta llegar al tiempo correspondiente a la W final del laminado. Los valores de todos los parámetros ajustados pueden verse en la Tabla 2, junto a los correspondientes coeficientes de determinación (r^2).

Tabla 2. Valores ajustados para los parámetros de las ecuaciones que predicen la humedad, temperatura y calidad del producto durante el secado al vacío.

Modelo	Parámetro	Valor ajustado	
		FSac	FPol
Ec. (3) y (4)	D_0 (m ² /s)	0,1644	0,0334
	E_a (J/mol)	52243,8	47341,3
	r^2	0,9630	0,9520
Ec. (5)	h_{eff} (W/m ² °C)	30,183	33,212
	r^2	0,9620	0,9476
Ec. (6.1)	k_0 (s ⁻¹)	5,6772	2,6189
	E_{aq} (J/mol)	33506	31137
	n_1	$6,07 \times 10^{-5}$	$8,99 \times 10^{-5}$
	n_2	0,0278	0,0295
	r^2	0,8790	0,8520

Dado que el valor de k_2 hallado para ambas formulaciones no tuvo peso en la Ec. (6.2), se ajustó finalmente un factor preexponencial k_0 independiente de la humedad.

3.2.1. Cinéticas de secado

En la Fig. 2 se muestran los valores experimentales de W vs t junto a los predichos por el modelo, para cada formulación y temperatura de bandeja (T_b).

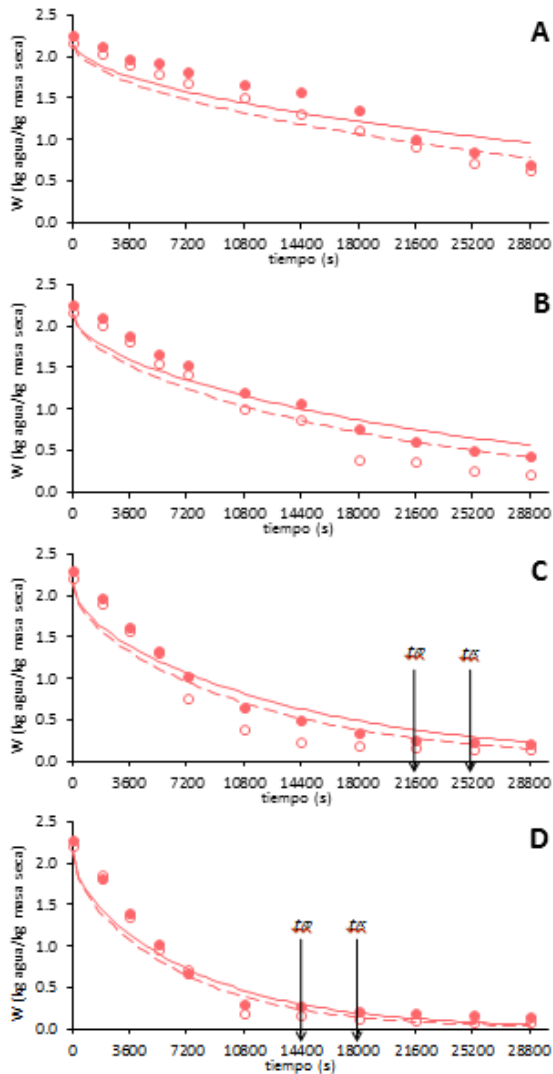


Figura 2. Cinéticas de secado al vacío experimentales (símbolos) y predichas (líneas) para FSac (●—) y FPol (○- -) a 40°C (A), 50°C (B), 60°C (C) y 70°C (D). t_{FS} y t_{FP} son los tiempos en que se alcanza la W final del producto en FSac y FPol, respectivamente.

En general, el modelo subestima los valores de humedad durante las primeras 2 o 3 horas de secado, mientras que ocurre lo contrario hacia el final del proceso. La calidad predictiva fue en general aceptable, siendo superior para $T_b = 70^\circ\text{C}$.

La Fig. 3 muestra los valores predichos para el coeficiente de difusión del agua (D) en ambas matrices, en función de la temperatura de bandeja. Para cualquier T_b , el valor de D correspondiente a FPol es mayor que el de FSac, lo cual se corresponde con la mayor velocidad de secado observada experimentalmente para FPol ($\alpha=0,05$).

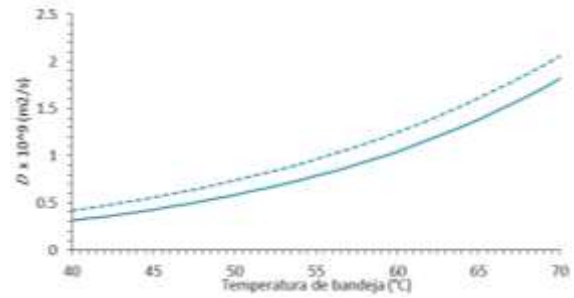


Figura 3. Coeficiente de difusión del agua (D) en función de la temperatura de bandeja, predicho por la Ec. (7) para FSac (—) y FPol (- -).

Se encontraron valores de D entre $3,1 \times 10^{-10}$ y $1,8 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ para FSac y entre $4,2 \times 10^{-10}$ y $2,0 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ para FPol. Otros autores que deshidrataron pulpas de fruta al vacío han reportado valores similares: entre $7,0 \times 10^{-10}$ y $3,3 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ en pasta de coco, a una presión de 8,3 kPa y temperaturas entre 65 y 75 °C (Jena y Das, 2007); entre $1,6 \times 10^{-9}$ y $9,2 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ en pulpa de mango, a las mismas condiciones que el anterior (Jaya y Das, 2003); y entre $2,3 \times 10^{-9}$ y $4,0 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ en rodajas de calabaza, a 5 kPa y temperaturas entre 50 y 70 °C (Arévalo-Pinedo y Murr, 2006). En cuanto a las energías de activación aquí ajustadas, concuerdan con lo hallado por Ashraf *et al.* (2012), quienes reportaron valores entre 34 y 55 kJ/mol para el secado de pasta de dátiles con distintos espesores, a 20 kPa entre 60 y 80 °C.

3.2.2. Historias térmicas

En la Fig. 4 se muestran los valores experimentales y predichos de la temperatura del producto en función del tiempo, para cada formulación y temperatura de bandeja. En cuanto a los coeficientes de transferencia de calor, los valores ajustados son más bajos que los informados para alimentos deshidratados con aire caliente (Ratti y Crapiste, 1995), pero esto es esperable, puesto que las condiciones de vacío, si bien favorecen la transferencia de masa, limitan en gran medida la de calor, que queda restringida al contacto entre la muestra y la bandeja calefactora y a alguna disipación. Si se observan los datos experimentales en la Fig. 4, puede verse que las historias térmicas para ambas formulaciones son iguales ($\alpha=0,05$). Sin embargo, el ajuste de la Ec. (5) arrojó un valor de h_{eff} mayor para FPol (ver Tabla 2), lo que compensa la mayor velocidad de secado (dW/dt) de FPol, permitiendo la predicción de la misma velocidad de calentamiento (dT/dt) en ambas formulaciones.

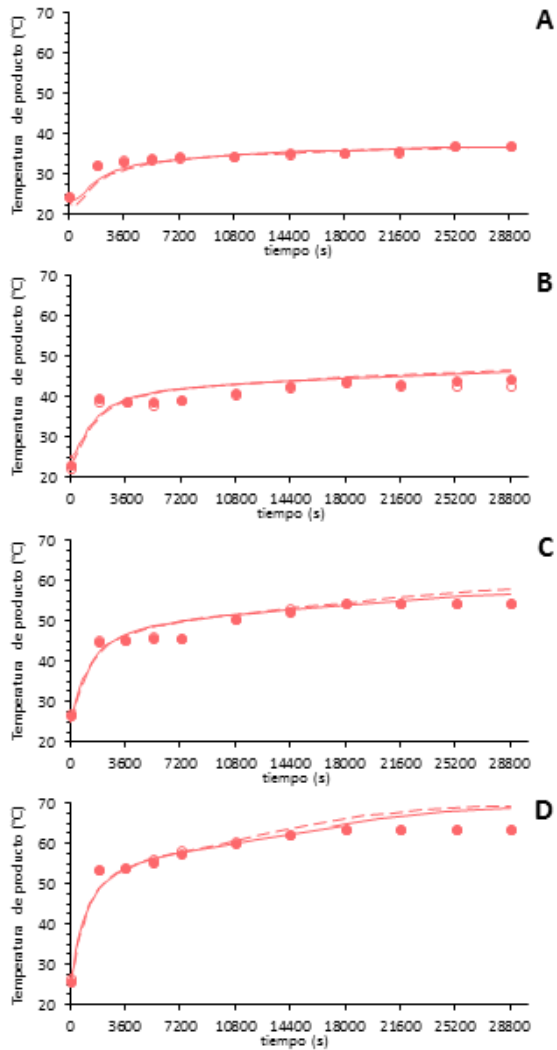


Figura 4. Historias térmicas experimentales (símbolos) y predichas (líneas) para FSac (●—) y FPol (○- -) a 40°C (A), 50°C (B), 60°C (C) y 70°C (D).

3.2.3. Cinéticas de calidad

En la Fig. 5 pueden verse los datos experimentales de retención de AA en función del tiempo, junto a los valores predichos por la Ec. (6.1) expresados en términos de retención (Q/Q_0). Para las temperaturas de bandeja de 60 y 70 °C (Figuras 5.C y 5.D), sólo se grafican los datos y modelos hasta el tiempo en que se alcanza la W final del producto. Con respecto al modelado de la calidad en función del tiempo, de acuerdo a los valores de k_0 y E_{aq} ajustados para cada formulación, se predice una constante cinética k que sólo varía con la temperatura del producto, tal como se muestra en la Fig. 6.

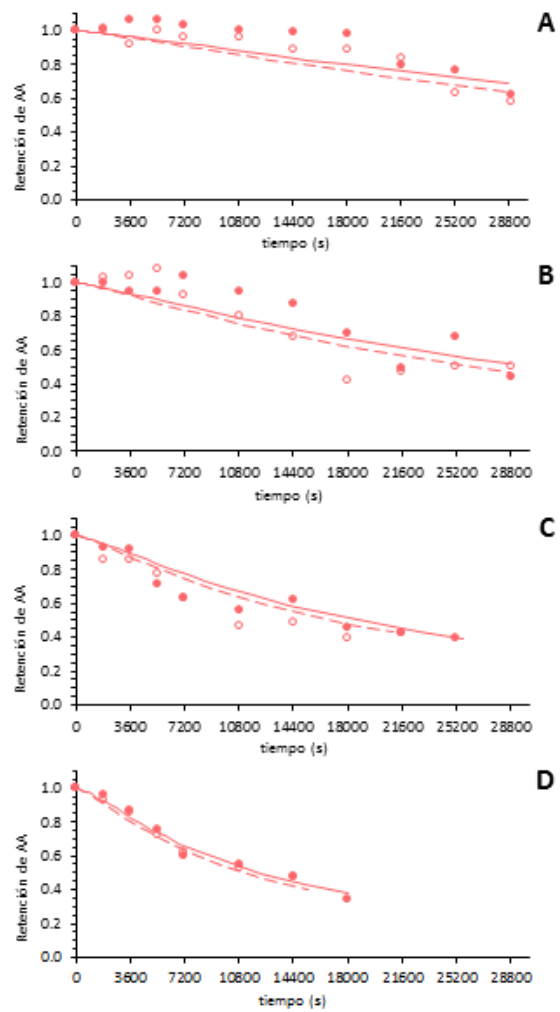


Figura 5. Retención de ácido ascórbico en función del tiempo de secado al vacío. Se muestran los datos experimentales (símbolos) y predichos (líneas) para FSac (●—) y FPol (○- -) a 40°C (A), 50°C (B), 60°C (C) y 70°C (D).

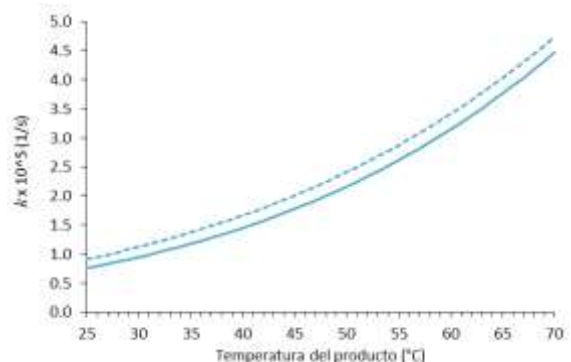


Figura 6. Constante cinética k para la degradación de ácido ascórbico durante el secado al vacío de FSac (—) y FPol (- -).

Algunos autores han modelado la dependencia de k tanto con la humedad como con la temperatura del

producto durante distintos procesos de secado: Erenturk *et al.* (2005) en rosa mosqueta; Villota y Karel (1980) en un sistema modelo con carboximetilcelulosa; Khraisheh *et al.* (2004) en alimentos con alto contenido de almidón. En este trabajo no se encontró un efecto explícito de la humedad sobre la pérdida de calidad. Esto no significa, sin embargo, que la humedad no afecte la cinética de degradación del AA. De hecho lo hace y está comprobado en numerosos trabajos científicos para condiciones isotérmicas: Lee y Labuza (1975) en un sistema modelo con celulosa a distintas actividades acuosas; Goula y Adamopoulos (2006) en pulpa de tomate; Uddin *et al.* (2001) en kiwi. Lo que sucede en realidad es que el efecto de la humedad no se percibe cuando se ajustan los parámetros de la Ec. (6.1) para cada formulación de rosa mosqueta, debido a que se abarcan distintas T_b . Es decir, si analizamos la variación de calidad (dQ/dt) en una formulación dada y comparamos muestras que tengan la misma temperatura pero distinta humedad (necesariamente para distintas T_b), el efecto causado por W sobre dQ/dt se compensa con el efecto de las distintas historias térmicas, de modo que la muestra que tiene mayor W tardó menos tiempo en llegar a la misma temperatura. Así, la constante cinética k aparenta depender principalmente de la temperatura del producto y no de la humedad. Sin embargo, el efecto de W en la pérdida de calidad se vuelve evidente al comparar muestras con la misma historia térmica pero distinta W , es decir, cuando se contrastan las dos formulaciones a una misma T_b . En este caso, se ajustó una constante cinética mayor para FPol en todo el rango de temperatura del producto (Fig (6)). Nótese que la mayor velocidad de secado de FPol generó muestras con la misma historia térmica pero menor W que las de FSac a los mismos tiempos. Finalmente, de acuerdo a los valores de n_1 y n_2 ajustados para cada formulación, se obtuvo un orden de reacción que varía entre 1,11 y 2,06 según se observa en la Fig. 7.

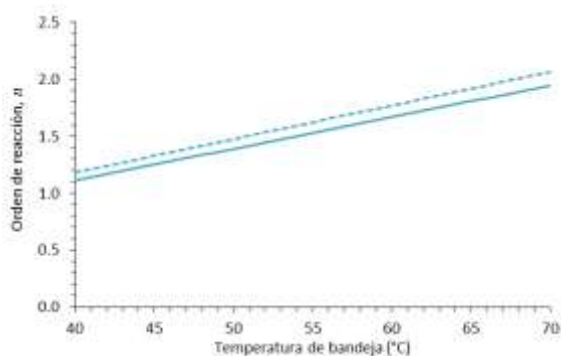


Figura 7. Orden de reacción n predicho por la Ec. (6.1) para la degradación de ácido ascórbico durante el secado al vacío de FSac (—) y FPol (- -).

Esto condice con lo reportado en numerosos trabajos, mencionados en una revisión de Santos y Silva (2008), donde se aplican cinéticas de primer y segundo orden para modelar la degradación de AA en frutas y vegetales procesados, dependiendo de la presión parcial de oxígeno.

3.3. Discusión complementaria

En concordancia con la menor constante cinética ajustada para FSac (ver Fig. 6), se predice una velocidad de degradación de AA apenas menor para esta formulación, aunque, luego de las 8 horas de secado, la retención tiende a un valor medio de 0,53 para ambas formulaciones a $T_b = 40$ y 50 °C (ver Fig. 5A y 5B). Sin embargo, el dato que interesa con fines prácticos, es la retención de AA en los productos terminados, para $T_b = 60$ y 70 °C. La Tabla 3 muestra dichos valores, junto a los tiempos de secado correspondientes.

Tabla 3. Tiempo de proceso y retención nutricional en los laminados de FSac y FPol obtenidos por secado al vacío a 60 y 70°C. Supraíndices diferentes en una misma fila indican valores que difieren significativamente ($\alpha=0,05$).

	FSac		FPol	
	$T_b = 60$ °C	$T_b = 70$ °C	$T_b = 60$ °C	$T_b = 70$ °C
Tiempo final de secado (min)	420 ^a	300 ^b	360 ^c	240 ^d
Retención de AA experimental	0,3962 ^a	0,3542 ^a	0,4388 ^a	0,4876 ^a
Retención de AA predicha	0,3952 ^a	0,3759 ^a	0,4272 ^a	0,4238 ^a

Puede verse que, para ambas temperaturas de bandeja, FSac requiere 60 minutos más que FPol para alcanzar la actividad acuosa del producto final, incluso cuando la humedad correspondiente es mayor para FSac (0,23 kg agua/ kg masa seca) que para FPol (0,17 kg agua/ kg masa seca). Entonces, a pesar de que el AA se degrada más rápido en FPol, la mayor velocidad de secado compensa este efecto, resultando en la misma retención nutricional para ambas formulaciones (ANOVA bifactorial, $\alpha=0,05$). A su vez, la velocidad de secado también compensa el efecto de la temperatura de bandeja. En este caso, un aumento de 10 °C en T_b (de 60 a 70 °C) implica una reducción de 120 minutos en el tiempo de secado de cada formulación (ver Tabla 3), resultando en productos de igual retención de AA. Kurozawa *et al.* (2014) también observaron esta

relación entre el tiempo total de proceso y la retención nutricional en frutas. Erenturk *et al.* (2005) confirmaron que las temperaturas bajas (entre 40 y 50 °C) no resultaban favorables para el secado de rosa mosqueta, mientras que a 70 °C se obtenían productos con alta retención de vitamina C debido al menor tiempo requerido para el secado.

4. Conclusiones

El modelado simultáneo de las variaciones de humedad, temperatura y contenido de AA durante el secado al vacío, permitió ajustar un conjunto de parámetros para cada formulación de rosa mosqueta, obteniéndose predicciones satisfactorias de las cinéticas de secado, historias térmicas y cinéticas de degradación de ácido ascórbico a distintas temperaturas de bandeja. La historia térmica fue la misma para ambas formulaciones, mientras que la matriz adicionada con povidexrosa mostró mayores velocidades de secado y de degradación de calidad. El orden de reacción para la degradación del ácido ascórbico durante el secado al vacío varió aproximadamente entre primer y segundo orden, de acuerdo a la temperatura de bandeja. En los procesos de secado a 40 y 50 °C no se alcanzó la humedad final del producto en el tiempo cubierto por los experimentos (8 horas). Por lo tanto, no se recomienda deshidratar a temperaturas inferiores a 50 °C, ya que la calidad final del producto se ve afectada igual o más que a mayores temperaturas y no se justifica la gran demora (más del doble) en el tiempo de proceso. Al deshidratar ambas formulaciones a 60 y 70 °C, las diferencias en la velocidad de secado fueron suficientes para compensar tanto el efecto del sacárido (la calidad se degrada más rápido en la formulación con povidexrosa) como el efecto de la temperatura de bandeja (la calidad se degrada más rápido a 70 °C), de modo que se obtuvo la misma retención nutricional en todos los casos. Por tanto, se recomienda deshidratar a 70 °C para minimizar los tiempos de proceso.

El modelo matemático propuesto resulta novedoso y superador, dado que se alimentaron historias térmicas y de secado paso a paso para resolver el problema inverso de una cinética de calidad de orden variable. Esto constituye una herramienta con potencial impacto positivo en la producción de snacks nutritivos a base de fruta, ya que permitiría un diseño más completo del procesamiento de alimentos, incorporando la variación de la calidad del producto en los modelos de simulación de equipos.

5. Referencias

Amellal, H. y Benamara, S. (2008). *Vacuum drying of common date pulp cubes*. *Drying Technology*, 26, 378-382.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists) (1998). *Official Methods of Analysis*, 16^o ed. AOAC International, Gaithersburg, USA.

Arévalo-Pinedo, A. y Murr, F.E.X. (2006). *Kinetics of vacuum drying of pumpkin (Cucurbita maxima): Modeling with shrinkage*. *Journal of Food Engineering*, 76, 562-567.

Ashraf, Z., Hamidi-Esfahani, Z. y Sahari, M.A. (2012). *Evaluation and Characterization of Vacuum Drying of Date Paste*. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 14, 565-575.

Crank, J. (1975). *The mathematics of diffusion* (2^o ed.). Oxford: Oxford University Press.

Crapiste, G.H. y Rotstein, E. (1997). *Design and performance evaluation of dryers*. In *Handbook of food engineering practice* by K.J. Valentas, E. Rotstein, R.P. Singh (pp. 718-726). Boca Raton, CRC Press.

Demarchi, S.M., Quintero Ruiz, N.A. y Giner, S.A. (2014). *Sorptional behaviour of rosehip leather formulations added with sucrose or polydextrose*. *Biosystems Engineering*, 118, 83-94.

Erenturk, S., Gulaboglu, M.S. y Gultekin, S. (2005). *The effects of cutting and drying medium on the vitamin C content of rosehip during drying*. *Journal of Food Engineering*, 68, 513-518.

Giner, S.A. (2001). *An improved cross-flow wheat drying model for equipment design*. *Acta Horti* 566, 467-476.

Goula, A.M. y Adamopoulos, K.G. (2006). *Retention of Ascorbic Acid during Drying of Tomato Halves and Tomato Pulp*. *Drying Technology: An International Journal*, 24(1), 57-64.

Hertog, M.L.A.T., Verlinden, B.E., Lammertyn, J. y Nicolai, B.M. (2007). *OptiPa, an essential primer to develop models in the postharvest area*. *Computers and Electronics in Agriculture*, 57, 99-106.

Jaya, S. y Das, H. (2003). *A vacuum drying model for mango pulp*. *Drying Technology*, 21(7), 1215-1234.

Jena, S. Y Das, H. (2007). *Modelling for vacuum drying characteristics of coconut presscake*. *Journal of Food Engineering*, 79, 92-99.

- Kafkas, E., Koşar, M., Türemiş, N. y Başer, K.H.C. (2006). *Analysis of sugars, organic acids and vitamin C contents of blackberry genotypes from turkey*. Food Chemistry, 97(4), 732-736.
- Khraisheh, M.A.M., McMinn, W.A.M. y Magee, T.R.A. (2004). *Quality and structural changes in starchy foods during microwave and convective drying*. Food Research International, 37, 497-503.
- Kurozawa, L.E., Terng, I., Dupas Hubinger, M. y Park, K.J. (2014). *Ascorbic acid degradation of papaya during drying: effect of process conditions and glass transition phenomenon*. Journal of Food Engineering, 123, 157-164.
- Lee, J.H. y Kim, H.J. (2009). *Vacuum drying kinetics of Asian white radish (*Raphanus sativus* L.) slices*. LWT-Food Science and Technology, 42, 180-186.
- Lee, S.H. y Labuza, T.P. (1975). *Destruction of ascorbic acid as a function of water activity*. Journal of Food Science, 40, 370-373.
- Leiva Díaz, E., Giannuzzi, L. y Giner, S. (2009). *Apple pectic gel produced by dehydration*. Food and Bioprocess Technology, 2(2), 194-207.
- Lin, S.H. y Agalloco, J. (1979). *Degradation kinetics of ascorbic acid*. Process Biochemistry, 32, 22-24.
- Lusas, E.W. y Rooney, L.W. (2001). *Snack Foods Processing*. Boca Raton, FL: CRC Press LLC.
- Mohsenin, N.N. (1980). *Thermal properties of food and agricultural materials*. Gordon and Breach Science Publishers, New York.
- Nojavan, S., Khalilian, F., Kiaie, F.M., Rahimi, A., Arabanian, A. y Chalavi, S. (2008). *Extraction and quantitative determination of ascorbic acid during different maturity stages of rosa canina l. fruit*. Journal of Food Composition and Analysis, 21(4), 300-305.
- Origin. (2009). *OriginPro 8.1*. Northampton, USA: Originlab Corporation.
- Pirone, B.N., Ochoa, M.R., Kessler, A.G. y De Michelis, A. (2007). *Chemical characterization and evolution of ascorbic acid concentration during dehydration of rosehip (*Rosa Eglanteria*) fruits*. American Journal of Food Technology, 2(5), 377-387.
- Ratti, C. (2001). *Hot air and freeze-drying of high-value foods: a review*. Journal of Food Engineering, 49(4), 311-319.
- Ratti, C. y Crapiste, G.H. (1995). *Determination of heat transfer coefficients during drying of foodstuffs*. Journal of Food Processing Engineering, 18, 41-53.
- Richter Reis, F. (2014). *Studies on Conventional Vacuum Drying of Foods*. In Vacuum Drying for Extending Food Shelf-Life by F. Richter Reis, (pp. 7-18). SpringerBriefs in Applied Sciences and Technology. Springer, London.
- Santos, P.H.S. y Silva, M.A. (2008). *Retention of Vitamin C in Drying Processes of Fruits and Vegetables - A Review*. Drying Technology, 26, 1421-1437.
- Singh, R.P., Heldman, D.R. y Kirk, J.R. (1976). *Kinetics of quality degradation: Ascorbic acid oxidation in infant formula during storage*. Journal of Food Science, 41, 304-307.
- Torrez Irigoyen, R.M. y Giner, S.A. (2014). *Drying-toasting kinetics of presoaked soybean in fluidised bed. Experimental study and mathematical modelling with analytical solutions*. Journal of Food Engineering, 128, 31-39.
- Torrez Irigoyen, R.M. y Giner, S.A. (2017). *Modelling thin layer drying-roasting kinetics of soaked quinoa. Coupled mass and energy transfer*. Biosystems Engineering, 157, 99-108. <http://www.sciencedirect.com/science/journal/15375110>
- Uddin, M.S., Hawlader, M.N.A. y Zhou, L. (2001). *Kinetics of ascorbic acid degradation in dried kiwifruits during storage*. Drying Technology, 19, 437-446.
- Villota, R., y Karel, M. (1980). *Prediction of ascorbic acid retention during drying II. Simulation of retention in a model system*. Journal of Food Processing and Preservation, 4, 141-159.

37TCA. Efecto de diferentes aceites vegetales sobre las características físicas y de color en galletitas dulces libres de gluten enriquecidas con pasas de arándanos.

Effect of different vegetable oils on physical and color characteristics in gluten-free sweet cookies enriched with blueberry raisins.

Antonio Malleret¹, Mirta Velazque¹, Horacio Martinez¹. Vanesa Giudici¹.

1. Facultad de Ciencias de la Alimentación. Ms Tavella N° 1450. Concordia. Entre Ríos. Argentina
malleretd@fcal.uner.edu.ar

Resumen

Las características físicas y el color de un alimento son atributos de calidad fundamentales que inciden sobre los consumidores. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto de diferentes aceites vegetales sobre parámetros físicos y de color en galletitas dulces sin gluten. Se elaboraron tres formulaciones, enriquecidas con pasas de arándanos osmódeshidratadas y tres tipos diferentes aceites: Maíz, Oliva y Soja. Los parámetros físicos y de color determinados fueron: Peso (gr), Diámetro (mm), Espesor (mm), Relación Diámetro/Espesor, Humedad (%), L^* , a^* y b^* del espacio Cie-Lab, Croma (C^*ab), Tono (h^*ab), variación total color (ΔE). Los datos obtenidos se analizaron mediante test de ANOVA. El Diámetro y Espesor, presentan diferencias estadísticamente significativas (p -valor <0.05), para las tres formulaciones ensayadas. Las galletitas elaboradas con Ac. Soja presentan los valores más altos para la Relación D/E, y los valores más bajos de Humedad. Los valores L^* , a^* , b^* , no presentan diferencias estadísticamente significativas para las galletitas elaboradas con Ac. Maíz y Oliva, registrándose la mayor Luminosidad en la formulación con Aceite de Soja. Los valores para el Tono y Croma, muestran una tendencia al amarillo-rojo. La mayor variación de color, corresponde a las galletitas elaboradas con Aceite de Soja.

Palabras clave: Aceites vegetales, galletitas sin gluten, parámetros físicos, color.

Abstract

The physical characteristics and color of a food are fundamental quality attributes that affect consumers. The objective of the present work was to study the effect of different vegetable oils on physical and color parameters in sweet gluten-free cookies. Three formulations were elaborated, enriched with raisins of osmódeshidratadas and three different types of oils: Corn, Olive and Soy. The physical and color parameters determined were: Weight (gr), Diameter (mm), Thickness (mm), Ratio D/E, Humidity (%), L^* , a^* and b^* of the Cie-Lab space, Chroma (C^*ab), Tone (h^*ab), total color variation (ΔE). The data obtained were analyzed by ANOVA test. The Diameter and Thickness, present statistically significant differences (p -value <0.05), for the three tested formulations. Cookies made with Ac. Soy beans have the highest values for the Ratio D/E, and the lowest Humidity values. The values L^* , a^* , b^* , do not present statistically significant differences for the cookies made with Ac. Corn and Olive, registering the highest Luminosity in the formulation with Soybean Oil. The values for the Tone and Chroma show a tendency to yellow-red. The greatest variation in color corresponds to the cookies made with soybean oil.

Keywords: Vegetable oils, gluten-free cookies, physical parameters, color.

1. Introducción

La apariencia es muchas veces el único atributo en el cual se basa la decisión de comprar o consumir un alimento (Houg, 2005). Dentro de los productos panificados las características físicas relacionadas con la apariencia que más influyen sobre los consumidores son el tamaño y el color. El color en los alimentos es en general una propiedad sensorial importante, teniendo en cuenta que es una característica de atracción para el consumidor. Asimismo, está afectado por una variedad de factores: endógenos y exógenos que pueden verse influenciados por diversas causas. Los factores exógenos consisten en lugar de almacenamiento, luz, y proceso de elaboración, por otro lado los endógenos involucran los pigmentos, colores agregados y características físicas y químicas de los ingredientes utilizados (Taub y Singh, 1998).

De acuerdo con Badui, 2006, los consumidores manifiestan una fuerte preferencia o aceptabilidad por aquellos productos de apariencia atractiva, el color es el primer atributo que se juzga de los productos. Esto es decisivo ya que en innumerables pruebas se ha comprobado que cuando el color de un alimento cambia sin alterar su forma, aroma u otros atributos de textura, se obtienen una respuesta de rechazo por parte de los consumidores, o incluso de los catadores entrenados.

Las galletitas son un producto horneado que se caracteriza por una bajo contenido de agua final. Sus tres ingredientes principales son típicamente harina, materia grasa y azúcar, además de otros ingredientes que pueden incluirse en la formulación de la masa y que son los agentes de fermentación química, jarabes, sal y emulsionantes, aunque estos ingredientes generalmente solo se usan a bajo niveles (Pareyt y Delcour, 2008).

En cuanto al color de las galletitas, el mismo está relacionado no solo con el color de la harina utilizada sino también a reacciones Maillard y caramelización, que tienen lugar durante la cocción. (Ameur, Mathieu, Lalanne, Trystram, y Birlouez-Aragon, 2007).

Diversos autores han señalado que las variaciones de colores más claros a oscuros o de más amarillento a marrón, en galletitas horneadas con materia grasas líquidas, estarían causado por la mayor difusión del aceite liberado durante el procesos de cocción, que podrían producir una mayor concentración de azúcares, lo que lleva a un fenómeno de caramelización más intenso, con la producción de polímeros marrones, que contribuyen a la coloración superficial de las mismas (Wade, 1988; Manley, 2011).

Un tipo particular de galletitas libres de gluten, son las elaboradas a partir de mezclas de harinas: Arroz, Mandioca, y Maíz. Debido a los altos niveles de azúcar y materia grasa, y los bajos niveles de agua se presenta una limitación tecnológica relacionada con el desarrollo de una red que permita contener la humedad y los gases dentro de la masa (Pareyt & Delcour, 2008; HadnaCev, Torbica, & HadnaCev, 2013).

La materia grasa forma uno de los componentes básicos en una formulación de galletitas dulces y está presente en niveles relativamente altos. La grasa actúa como un lubricante y contribuye a la plasticidad de la galleta masa (Maache-Rezzoug, Bouvier, Allaf, y Patras, 1998). También previene el desarrollo excesivo del gluten proteínas durante la mezcla.

El tipo y la cantidad de la grasa añadida a la masa tienen un fuerte efecto en las propiedades viscoelástica de las mismas. (Baltsavias, Jurgens, y van Vliet, 1997). Estos autores, también informaron que la reducción en el contenido de grasa o la sustitución por aceite líquido causa entre otros efectos una marcada disminución en la rigidez de la masa, lo que demuestra que ésta es un componente de estructura crucial.

El objetivo del presente trabajo ha sido estudiar el efecto que producen diferentes tipos de aceites vegetales en las características físicas, relacionadas con el tamaño, peso, y en el color de galletitas dulces, libres de gluten, enriquecidas con pasas de arándanos.

2. Materiales y métodos

Elaboración de las galletitas

Para la elaboración de las galletitas libres de gluten, se utilizaron premezclas comerciales de harinas: Arroz, Mandioca y Maíz, pasas de arándanos osmodeshidratadas, diferentes aceites vegetales presentes en el mercado: Ac. Maíz, Soja y Oliva, huevos, leudantes químicos (Bicarbonato de sodio), y esencias (vainilla o limón); las proporciones utilizadas se muestran en la Tabla 1. Con la masa preparada, luego de refrigerada se moldearon las unidades de galletitas en forma de bollitos garantizándose un peso promedio de $32 \pm 0,5g$, el moldeo final se realizó de manera manual, dándole un acabado circular de 60-70 mm de diámetro. Las galletitas obtenidas se colocaron en placas lubricadas y hornearon a $160\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 15 min. Se dejaron enfriar y colocaron en frascos de vidrio

rotulados, para su posterior evaluación. Se realizaron dos elaboraciones de 50 unidades por cada tipo de aceite vegetal utilizado.

Tabla 1. Formulación utilizada en los tres tipos de galletitas dulces.

INGREDIENTES	% (*)
Harina Premezclas	45
Azúcar Blanca	25
Aceite Vegetal	10
Huevos	10
Pasas de Arándanos	6
Esencia (Limón)	1
Goma xántica	1
Leudante Químico	1
Sal	1

(*) como g / 100 g en base a masa



Figura 1. Equipo utilizado en la determinación de Humedad

Parámetros físicos

Los parámetros físicos, determinados fueron: Peso (g), Diámetro (mm), Espesor (mm), Relación Diámetro/Espesor o Relación de extensión, Humedad (%), se anotaron los datos, promedio de 10 unidades, por cada tipo de aceite utilizado. Para determinar Peso se utilizó Balanza electrónica marca Boeco, modelo BPB53; el Espesor se determinó con calibre vernier; la Relación Diámetro/Espesor, o ratio de extensión, se determinó dividiendo el valor promedio del Diámetro y el valor promedio del Espesor para cada lote de galletitas. Para medir Humedad, se utilizó un equipo marca BOECO, modelo SMO 01. Se procedió a un secado por infrarrojo a 105°C. Se utilizó una muestra de 1 a 2 g por cada fórmula y cada elaboración. El equipo se muestra en la Figura 1, es automático e indica la finalización del proceso. Los ensayos se realizaron por triplicado.

Determinación de Color

Para el análisis de color, en muestras de galletitas dulces sin gluten, enriquecidas con pasas de arándanos, se utilizó un colorímetro Minolta modelo CR-300, el mismo se muestra en la Figura 2., mediante el que se obtuvo los siguientes parámetros:

f

L*: recibe el nombre de “luminosidad”, atributo según el cual una superficie parece emitir más o menos luz. Para superficies reflectoras o transmisoras se reserva el término de “claridad”, por la que un cuerpo parece reflejar o transmitir por difusión una fracción mayor o menor de la luz incidente. Puede tomar valores entre 0 (negro absoluto) y 100 (blanco absoluto).

a*: define la desviación del punto acromático correspondiente a la claridad, hacia el rojo si $a^* > 0$, hacia el verde si $a^* < 0$.

b*: define la desviación del punto acromático correspondiente a la claridad, hacia el amarillo si $b^* > 0$, hacia el azul si $b^* < 0$, en escala CIEL*a*b*.

La determinación de color se realizó en el centro de la superficie superior, en diez unidades, posterior al día de elaboración.



Figura 2. Equipo utilizado en la determinación de color

A partir los valores de las coordenadas del espacio de color, CIE L*, a*, b* se calcularon las coordenadas psicométricas tono (h*ab) y croma (C*ab). El croma indica la intensidad o saturación del color, toma el valor 0 para estímulos acromáticos y normalmente, no pasa de 150 aunque puede superar valores de 1000 para estímulos monocromáticos.

A partir de las coordenadas a* y b*, se calculó el tono y el croma mediante las siguientes ecuaciones:

$$h^*_{ab} = \arctg(b^*/a^*) \quad (1)$$

$$C^*_{ab} = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (2)$$

Con el fin de cuantificar los cambios globales de color, se calculó la diferencia de color (ΔE) entre las muestras elaboradas con diferentes aceites vegetales y enriquecidas con pasas de arándanos, respecto a un testigo, elaborado de acuerdo a la misma formulación (Tabla 1), pero sin las pasas de arándanos; a los efectos de ponderar la influencia de éstas últimas en el color de la formulación final. Para ello, se utilizó siguiente ecuación:

$$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad (3)$$

Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos en las distintas mediciones se analizaron estadísticamente con software Statgraphics Centurion XV Corporate mediante Análisis de Varianza (ANOVA) y Pruebas Múltiple de Rangos (p-valor < 0.05). El método utilizado para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

3. Resultados y Discusión

En la Tabla 2, se muestran los valores obtenidos para los parámetros físicos: Peso (g), Diámetro (mm), Espesor (mm), Relación D/E o Ratio de extensión, y Humedad (%). Los parámetros físicos como el Peso, Diámetro, Espesor y Relación o Ratio de extensión presentan diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95% (P-valor < 0.05) para las muestras de galletitas elaboradas con Ac. Soja. El Diámetro y Espesor, presentan diferencias estadísticamente significativas, con un nivel de confianza del 95% (p-valor < 0.05), para las tres formulaciones de galletitas dulces libres de gluten, ensayadas.

Tabla 2. Parámetros físicos ensayados en las tres formulaciones de galletitas dulces.

MUESTRAS	Peso	Diámetro (mm)	Espesor (mm)	Relación	H
	(g)			D/E	
1 (Ac. Maiz)	27.0	70.3± 3.34 ^a	14.50± 1.01 ^a	4.77± 0.32 ^a	6.69± 0.74
	± 1.28 ^a				
2 (Ac.Oliva)	26.16	61.26± 0.42 ^b	15.65± 0.42 ^b	3.92± 0.10 ^b	9.10± 0.92
	± 0.07 ^a				
3 (Ac.Soja)	20.33	60.72± 2.28 ^b	12.03± 0.62 ^c	5.06± 0.29 ^c	5.04± 0.71
	± 1.30 ^b				

(*) Letras distintas indican diferencias significativas entre las medias (p-valor < 0.05).

Algunos autores como Chevallier *et al.*, 2000; señalan que durante el horneado ocurre un aumento del volumen del producto debido a la producción de gases provocados por los agentes leudantes y la evaporación del agua, que redundaría en una pérdida de peso de los mismos. Este tipo de comportamiento podría explicar lo que se observa en la Tabla 2, para las masas de las galletitas elaboradas con Ac. Soja, donde se registran los menores valores para el peso y la humedad en la masa final obtenida.

Los valores altos de Relación D/E, o Ratio de extensión, indican masas más quebradizas y secas que tienen un alto contenido de grasa y azúcar. (Manley, 2011). Esta observación coincide para las muestras de galletitas realizadas con Ac. Soja. Se observa en las galletitas dulces libres de gluten elaboradas con Ac. Oliva, un aumento en el espesor, para un determinado diámetro, lo que se traduce en una disminución de la Relación D/E o Ratio de

extensión, coincidiendo con la obtención de galletitas de masas más húmedas, como puede observarse en la Tabla 2, especialmente para el caso de las galletitas elaboradas con Ac. Oliva. Este comportamiento señalado por otros autores como Sudha *et al.* (2007), podría estar relacionado con la capacidad de absorción de aceite y las proteínas de las harinas presentes en la masa. Se ha observado también en la bibliografía consultada, que el agregado de proteínas a la masa, reporta una disminución de la Relación D/E o ratio de extensión (Rababah *et al.*, 2006).

En cuanto a la Humedad de las galletitas elaboradas con diferentes aceites vegetales, presentan un menor valor, en comparación con los valores observados en productos comercializados en el mercado local, coincidente con lo señalado por Ribotta (2016), las masas a base de harina de arroz requieren una hidratación muy alta, lo que explicaría la disminución de dicho parámetro. Para las galletitas elaboradas con Ac. Maíz y Oliva, los valores registrados de humedad, están por debajo de los reportados por otros autores para productos similares, Gerzhova, *et al.* (2016).

En resumen, el comportamiento de las masas de galletitas dulces libres de gluten, durante el horneado, elaboradas con premezclas de harinas de Arroz, Maíz, Mandioca, y diferentes aceites vegetales depende directamente de los tipos de aceites líquidos y de los diferentes contenidos de harinas utilizadas incidiendo directamente sobre las dimensiones físicas de las mismas, y la capacidad de retención de agua en la masa final.

Parámetros de Color

En la Figuras 3 se muestra imagen de las galletitas dulces libres de gluten, tomada como Testigo o referencia, consistente en una muestra comercial presente en el mercado local elaborada a partir de harina premezclas libres de gluten y aceite hidrogenado según rótulo del envase; y en las Figuras 4 al 6, se muestran las obtenidas para el presente estudio en el siguiente orden: elaboradas con Ac. Maíz, Ac. Oliva y Ac. Soja, respectivamente.



Figura 3. Galletita dulce, elaboradas con mezcla de harinas libres de gluten y sin pasas de arándanos tomada como Referencia



Figura 4. Galletitas dulces libres de gluten, elaboradas con Ac. Maíz y enriquecidas con pasas de arándanos



Figura 5. Galletitas dulces libres de gluten, elaboradas con Ac. Oliva y enriquecidas con pasas de arándanos



Figura 6. Galletitas dulces libres de gluten, elaboradas con Ac. Soja y enriquecidas con pasas de arándanos

En la Tabla 3, se muestran los valores obtenidos para los parámetros de color ensayados L, a*, b*, Tono, Cromo y Variación total de color con respecto a la muestra Testigo o de referencia.

Tabla 3. Parámetros de color ensayados en las tres formulaciones de galletitas dulces, y testigo.

MUESTRAS	L* Luminosidad	a* (verde-rojo)	b* (azul-amarillo)	h*ab	C*ab	ΔE
				Tono	Croma	
0 (Testigo)	58.65 ± 1.32	4.51 ± 1.29	23.31 ± 1.94	1,38	23,74	
1 (Ac.Maíz)	65.92 ± 4.03 ^a	5.36 ± 1.49 ^a	29.06 ± 1.48 ^a	1,39	29,57	8,08
2 (Ac.Oliva)	65.34 ± 3.38 ^a	2.88 ± 1.56 ^a	29.68 ± 1.20 ^a	1,47	29,85	9,75
3 (Ac.Soja)	76.63 ± 1.73 ^b	3.91 ± 0.41 ^b	23.60 ± 1.33 ^b	1,41	23,92	18,04

(*) Letras distintas indican diferencias significativas entre las medias (p-valor < 0.05).

Para los parámetros de color ensayados: las galletitas dulces libres de gluten elaboradas con Ac. Soja presentan una mayor Luminosidad o reflectancia L*, y una menor tendencia al amarillo b*, sin embargo para las galletitas dulces libres de gluten elaboradas con Ac. Maíz y Oliva presentan una menor Luminosidad o reflectancia L*, y una mayor tendencia al amarillo b*. En trabajos de otros autores consultados, este tipo de comportamiento se explica no sólo por el tipo de harina utilizado, sino también por las reacciones de camerilización o de Maillard durante la cocción. (Ameur *et al.*, 2007). También se ha encontrado en la bibliografía

consultada que este efecto podría haber sido causado por la mayor difusión del aceite dentro de las masas de las galletitas, liberado durante el proceso de cocción, que podrían producir una mayor concentración de azúcares, lo que lleva en consecuencia a un fenómeno de caramelización más intenso, con la producción de polímeros marrones, que contribuyen a la coloración superficial de las mismas (Manley, 2011).

En los tres tipos de formulaciones ensayadas, se observa que para las galletitas dulces libres de gluten elaboradas con Ac. Maíz y Oliva, no presentaron entre ellas, diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95% (p-valor < 0,05); sin embargo las galletitas dulces sin gluten elaboradas con Ac. Soja presentaron diferencias estadísticamente significativas para éstos tres parámetros estudiados, observándose en resumen una mayor luminosidad, menores valores de amarillos, este último semejante al de las galletitas dulces libres de gluten tomadas como de referencia.

Otros autores, como Altındağ *et al.* (2015), observaron que cuando se utilizan harinas de maíz en la elaboración de galletitas dulces, se obtienen valores de b*, más altos (más amarillos). Para galletitas dulces elaboradas con harinas de arroz, y especialmente de grano grueso, muestran una Luminosidad o reflectancia L*, (más oscuras).

En cuanto al parámetro Tono (h*ab) se corresponde al atributo que ha suscitado nombres como azul, verde, amarillo, rojo, etc. Numéricamente está relacionado, también en el plano cromático a*-b*, es una medida angular y corresponde al ángulo de matiz definido desde el eje positivo de la coordenada a*. El tono varía entre 0 y 360°, donde 0° se corresponde con el color rojo-púrpura; 90° con el color amarillo; 80° con el color azulado-verde; y 270° con el color azul (Gilbert, 1992). Es decir, valores de b* y a*, más altos en conjunto, indicarían tonos más rojizos, como los observados en el presente trabajo, según los valores mostrados en la Tabla 3, para las galletitas dulces libres de gluten, elaboradas con Ac. Maíz y Oliva.

Para el parámetro identificado como "Saturación" o "Croma", (C*ab), es un atributo que permite estimar la proporción de color cromático puro contenido en la sensación total. Este concepto representa, por lo tanto, la pureza o intensidad relativa de un color. Numéricamente se corresponde, en el plano cromático a*-b* (rojo-amarillo), es decir a la distancia desde el centro de la esfera de color al punto en cuestión. En el presente trabajo, las galletitas dulces libres de gluten elaboradas con Ac. Maíz y Oliva presentan la mayor sensación total de color hacia el rojo y las galletitas de referencia o testigo y las elaboradas con Ac. Soja, hacia el amarillo.

La mayor variación total de color ΔE , corresponde a las galletitas dulces libres de glúten, elaboradas con Ac. Soja.

Este comportamiento coincide con lo observado en otros trabajos, donde se ha señalado que en términos generales, un oscurecimiento de las galletitas puede atribuirse a una mayor difusión de del aceite liberado, durante el procesos de cocción, y que podrían producir una mayor concentración de azúcares, lo que lleva a un fenómeno de caramelización más intenso, con la producción de polímeros rojizos, que contribuyen a la coloración superficial de las mismas. También hemos encontrado en la bibliografía consultada, que otros autores han proporcionado diferentes puntos de vista en esta área y han especulado sobre la funcionalidad y propiedades determinantes de la calidad de los diferentes componentes utilizados en el proceso de elaboración, tales como: tipo de harina, azúcar, grasa, agua y han estudiado su papel e influencia durante las diferentes etapas de horneado de galletitas. (Pareyt, B., & Delcour, J. A., 2008).

4. Conclusiones

El comportamiento y las características físicas de las galletitas dulces libres de gluten elaboradas con diferentes aceites vegetales, durante el horneado dependen directamente de los tipos de aceites utilizados incidiendo éstos, sobre las dimensiones físicas de las mismas. Las galletitas elaboradas con Ac. Soja presentan los valores más altos para la Relación D/E o Ratio de extensión, y los valores más bajos para Peso y Humedad.

Los parámetros de color L^* , a^* , b^* , no presentan diferencias estadísticamente significativas en las formulaciones donde se utilizó Ac. Maíz y Oliva. Para la formulación donde se ha utilizado Ac. Soja, las galletitas obtenidas presentan la mayor luminosidad o reflectancia. Los valores obtenidos para el tono y croma, en todos los casos analizados, registran una tendencia al amarillo-rojo. La mayor variación color, corresponde a la formulación con Ac. Soja y la menor, a la realizada con Ac. Maíz.

5. Referencias

Ameur, L. A., Mathieu, O., Lalanne, V., Trystram, G., Birlouez-Aragon, I. (2007). *Comparison of the effects of sucrose and hexose on furfural formation and browning in cookies baked at different temperatures*. Food Chemistry, 101, 1407-1416.

Badui, S. (2006). *Química de los Alimentos*. 4 ed. Pearson Educación. México.

Baltsavias, A., Jurgens, A., van Vliet, T. (1997). *Rheological properties of short doughs at small deformation*. Journal of Cereal Science, 26, pp. 289–300.

Chevallier, S., Colonna, P., Buleon, A. & Della Valle, G. (2000). *Physicochemical behaviors of sugars, lipids, and gluten in short dough and biscuit*. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 48, pp. 1322–1326.

Gerzhova, A., Mondor, M., Benali, M., Aider, M. (2016). *Incorporation of canola proteins extracted by electroactivated solutions in gluten-free biscuit formulation of rice–buckwheat flour blend: assessment of quality characteristics and textural properties of the product*. International Journal of Food Science and Technology 51, pp 814–827.

Gilbert, E. (1992). *Medida del color*. Universidad Politécnica de Valencia España.

[<http://www.upv.es/entidades/ABDC/polibuscador>(consultado 2/3/2012)].

Hunt, R.W.G; Luo, M.R, (1998). *The structure of the CIE 1997 Colour Appearance Model (CIECAM97 s)*. Color Res. Appl. 23, pp 138-146.

Hough, G.; Fiszman, S. (2005). *Estimación de la vida útil sensorial de los alimentos*. Edición: Programa CYTED 2005. Madrid, España Editores: Guillermo Hough y Susana Fiszman.

Camino M., Mancebo, J. P., Gomez, M. (2015). *Effect of flour properties on the quality characteristics of gluten free sugar-snap cookies*. Food Technology Area, College of Agricultural Engineering, University of Valladolid, Valencia, Spain.

Manley, D. (2011). *Manley's technology of biscuits, crackers and cookies (4th Ed.)*. Cambridge England Woodhead Publishing.

Maache-Rezzoug, Z., Bouvier, J. M., Allaf, K., & Patras, C. (1998). *Effect of principal ingredients on rheological behaviour of biscuit dough and on quality of biscuits*. Journal of Food Engineering, 35, pp. 23–42.

Pareyt, B., & Delcour, J. A. (2008). *The role of wheat flour constituents, sugar, and fat in low moisture cereal based products: a review on sugar-*

38TCA. Análisis de parámetros texturales en galletitas dulces libres de gluten elaboradas con diferentes aceites vegetales y enriquecidas con pasas de arándanos.

Analysis of textural parameters in sweet gluten-free cookies made with different vegetable oils and enriched with blueberry raisins.

Antonio Malleret¹, Mirta Velazque¹, Horacio Martinez¹. Vanesa Giudici¹.

1. Facultad de Ciencias de la Alimentación. Ms Tavella N° 1450. Concordia. Entre Ríos. Argentina
malleretd@fcal.uner.edu.ar

Resumen

El objetivo del trabajo fue comparar distintos parámetros texturales de galletitas dulces libres de gluten, elaboradas con diferentes aceites vegetales: Maíz, Oliva y Soja, enriquecidas con pasas de arándanos. Se tomaron tres lotes de veinte unidades cada uno. La humedad final, varía entre 5-9%. Para realizar los ensayos, se utilizó una Máquina Universal de determinación de textura TA-XT2i, Texture Analyzer Stable Micro Systems. Los parámetros estudiados fueron: Fuerza Máxima (N), Distancia (mm), Coeficiente de Elasticidad (N/mm) y Área (N.mm). Se analizaron con software Statgraphics Centurion XV Corporate mediante Análisis de Varianza (p-valor<0.05). Los valores de humedad están por debajo de los reportados para productos similares comercializados en el mercado. La Dureza al corte (N) mostró diferencias estadísticas significativas para las cuatro muestras analizadas, encontrándose valores entre 28.1-180.4 N. El coeficiente de elasticidad, se encuentra en el rango 11.9-45.6 N/mm. Con respecto al Área, los valores hallados están dentro del rango 702.6-1457.6 N.mm; por encima de los observados en relación con la referencia. Las galletitas dulces elaboradas con Ac. Oliva, presentan la menor Dureza al corte y Área, indicando que se requiere una menor cantidad de energía para triturar las galletitas, y por lo tanto un menor trabajo de masticación.

Palabras clave: Análisis textural, galletitas sin gluten, aceites vegetales.

Abstract

The objective of the work was to compare different textural parameters of gluten free sweet cookies, made with different vegetable oils: Corn, Olive and Soya, enriched with blueberry raisins. Three batches of twenty units each were taken. The final humidity varies between 5-9%. To perform the tests, we used a Universal Texture Determination Machine TA-XT2i, Texture Analyzer Stable Micro Systems. The parameters studied were: Hardness (N), Distance (mm), Elasticity Coefficient (N / mm) and Area (N.mm). They were analyzed with Statgraphics Centurion XV Corporate software by Analysis of Variance (p-value <0.05). Humidity values are below those reported for similar products presents in the market. The Hardness (N), showed significant statistical differences for the four samples analyzed, finding values between 28.1-180.4 N. The coefficient of elasticity, is in the range 11.9-45.6 N /mm. With respect to the Area, the values found are within the range 702.6-1457.6 N.mm; above those observed in relation to the reference. Sweet cookies made with Ac. Olive, have the lowest Hardness to the cut and area, indicating that a smaller amount of energy is required to crush the cookies, and therefore less chewing work.

Keywords: Textural analysis, gluten-free cookies, vegetable oils.

1. Introducción

Las galletitas dulces figuran entre los cuatro productos de consumo masivo que registran mayor demanda en los hogares argentinos (fuente: Télam-29 Abr 2015). Según datos de la consultora Kantar Worldpanel, los porcentajes de penetración en los hogares son del 72,5% para las galletitas dulces y del 67,3% para las galletitas saladas. La mayoría de los productos de panadería, confitería y pastelería en Argentina contienen harina de trigo como principal componente. Existe, sin embargo, un grupo poblacional que presenta intolerancia a las prolaminas presentes no sólo en el trigo, sino también en la avena, la cebada y el centeno, conjunto de cereales identificados como TACC. Este serio síndrome, caracterizado por una mal absorción intestinal es llamado enfermedad celíaca y puede llevar a una severa malnutrición (Sierra Pérez, 2003). Si bien se han desarrollado una serie de productos comerciales para estos pacientes, su variedad en el mercado en general es escasa, la mayoría están elaborados a partir de harina de arroz, mandioca, maíz o mezclas de éstas últimas en proporciones variables, se utiliza como materia grasa margarinas, y son escasos los productos aptos para “celiacos” que contengan el agregado de otros alimentos que son fuentes de fitonutrientes, tales como las pasas de arándanos osmódeshidratadas. Por lo tanto hay una necesidad presente en un sector de la población, con requerimientos nutricionales especiales, como las personas que padecen ésta enfermedad y que desean encontrar una disponibilidad de productos sin gluten con micronutrientes necesarios para complementar su nutrición. El agregado de pasas de arándanos obtenidas de un proceso combinado de osmódeshidratación (DO) en baño de sacarosa y secado con aire caliente (SAC) de las bayas o frutos de arándanos (*Vaccinium corymbosum*), se debe a que se consideran un alimento rico en fibra, contribuyen con 1.3-3.6 g/100g, lo que representa aproximadamente el 4% de la fibra que se necesita a diario en una dieta de 2.000 calorías. Malleret, *et al.*, (2011).

La fibra es importante para la salud del sistema digestivo y también ayuda a mantener los niveles de colesterol en sangre bajo control mediante la reducción de la perjudicial *lipoproteína de baja densidad (LDL)*, también conocido como colesterol malo, responsable de ataques cardiacos o derrames cerebrales. Una porción de 1/3 taza de **arándanos** secos proporciona un 20% del valor diario de **vitamina C**, siempre basados en una dieta de 2.000 calorías, por lo cual son considerados como una fuente importante de esta vitamina o poderoso antioxidante natural necesario para la salud de los tejidos de la piel y la eliminación de los radicales libres, moléculas dañinas que generan

enfermedades tan graves como el cáncer, Zapata M. *et al.*, (2011).

En estos tipos de productos, libres de gluten, la calidad, en términos generales es un concepto abstracto, de difícil definición, donde el consumidor se constituye en el principal elemento para su evaluación. Para el consumidor, algunos de los atributos fundamentales de la calidad de cualquier alimento son la ausencia de defectos, tanto en la textura, como en el aspecto, que incluye color, forma, tamaño, aroma, y valor nutritivo. (Jarén Ceballos, 2009).

Se han clasificado las técnicas instrumentales utilizadas para medir la textura de los alimentos en tres grupos (Lozano, *et al.*, 2000):

- Ensayos empíricos, que miden alguna propiedad física bajo condiciones bien definidas.
- Ensayos imitativos, que intentan simular las condiciones a las que el material está sometido en la boca.
- Ensayos fundamentales, que miden propiedades físicas bien definidas tales como la viscosidad o el módulo elástico.

El objetivo del presente estudio, fue realizar ensayos empíricos y abordar los aspectos de calidad en galletitas dulces libres de gluten, elaboradas con diferentes aceites vegetales, como mejoradores de textura: Maíz, Oliva y Soja, enriquecidas con pasas de arándanos como fuente de valor nutritivo. Se realizaron ensayos, tales como: medición de Dureza al corte (Newton, N), Distancia (mm), Área (N.mm) y Coeficiente de Elasticidad (N/mm). Estos parámetros analizados en su conjunto, pueden ser a priori, un factor discriminante a la hora de definir la calidad esperada, del producto final, y son considerados de suma importancia para obtener galletitas dulces, libres de gluten de calidad organoléptica aceptable.

2. Materiales y métodos

Proceso de elaboración de las galletitas

La elaboración de las galletitas dulces libres de gluten, se muestra en la Figura 1, se utilizaron premezclas comerciales de harinas: Arroz, Mandioca y Maíz, pasas de arándanos osmódeshidratadas, diferentes aceites vegetales presentes en el mercado: Ac. Maíz, Soja y Oliva, huevos, leudantes químicos (Bicarbonato de sodio, Ac. tartárico, Almidón de maíz), y esencias (vainilla o limón); las proporciones utilizadas se muestran en la Tabla 1. Con la masa preparada, luego de refrigerada se moldearon las unidades de galletitas en forma de bollitos garantizándose un peso promedio de 32 ± 0.5 g, el moldeo final se realizó de manera manual, dándole un acabado circular de 60-70 mm de diámetro

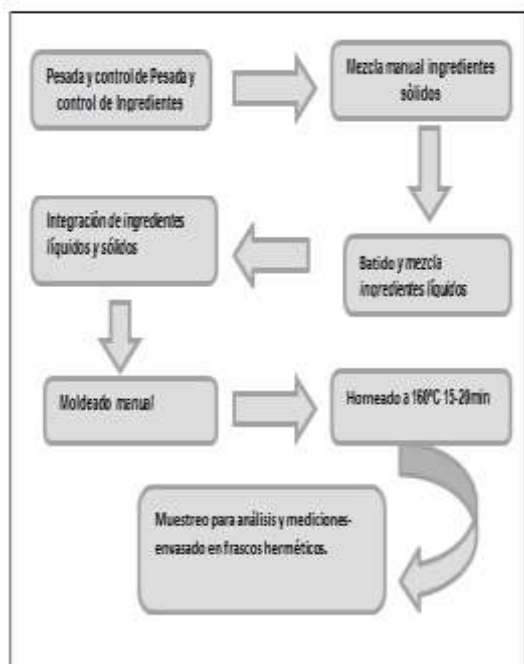


Figura 1. Diagrama del proceso elaboración de galletitas dulces libres de gluten

Las galletitas obtenidas se colocaron en placas lubricadas y hornearon a 160 °C por 15 min. Se dejaron enfriar y colocaron en frascos de vidrio rotulados, para su posterior evaluación. Se realizaron dos elaboraciones de 50 unidades por cada tipo de aceite vegetal utilizado. Como referencia se ha tomado en consideración una muestra de galletitas dulces libres de gluten, presentes en el mercado local, de marca comercial reconocida, elaboradas a partir de harina de arroz, almidón de maíz, margarina, agua, huevo en polvo, leudante químico, goma xántica y esencia artificial.

Tabla 1. Formulación utilizada en los tres tipos de galletitas dulces.

INGREDIENTES	% (*)
Harina Premezclas	45
Azúcar Blanca	25
Aceite Vegetal	10
Huevos	10
Pasas de Arándanos	6
Esencia (Limón)	1
Goma xántica	1
Leudante Químico	1
Sal	1

(*) como g / 100 g en base a masa

Medición de Humedad

Se determinaron los contenidos de humedad, de acuerdo con los métodos descritos en el 19 Edición de los métodos oficiales de análisis de AOAC. (AOAC, 2012).

Preparación de muestras para ensayo de textura

Para medir la textura se utilizó una máquina universal de determinación de textura TA-XT2i Texture Analyzer Stable Micro Systems, software Texture Expert EXCED, versión 2,64E y como accesorio una punta cilíndrica de 2mm (P/2) usando una celda de carga de 5kg. Se muestra en la Figura2. Los parámetros del ensayo fueron los que se señalan a continuación:

2. Modo: Medida de fuerza en compresión.
3. Opción: Retorno al Inicio.
4. Velocidad de Pre-Test: 1.0 mm/s
5. Velocidad de Test: 1.0 mm/s
6. Velocidad de Post-Test: 10.0 mm/s
7. Distancia: 50%.
8. Trigger Tipo: Auto - 5g
9. Rango de adquisición de datos: 200 puntos por segundo.

Como producto de la medición se obtuvo un gráfico fuerza – deformación, como se muestra en la Figura 3. Para el ensayo, las galletitas se colocaron sobre un cilindro de acrílico con una pequeña concavidad central para que sea penetrada por la punta en la zona ecuatorial.



Figura 2. Máquina universal de determinación de textura TA-XT2i

Una vez que el trigger alcanzó una fuerza de 5 gramos, la punta procedió a comprimirla y en el gráfico se observó un rápido ascenso de la fuerza. Durante esta etapa, la muestra se deformó bajo la fuerza aplicada. Esta fase finalizó abruptamente cuando la punta penetró la superficie y comenzó a introducirse dentro de la unidad, lo que se conoce como “punto de ruptura”.

3. Resultados y Discusión

En la tabla 2, se pueden observar los valores promedios para el parámetro Humedad. Los valores registrados están por debajo de los reportados por otros autores, para productos similares. Gerzhova, *et al.*, (2016).

Tabla 2. Humedad (%) en galletitas dulces libres de gluten.

PARAMETRO	REFERENCIA	MUESTRA 1	MUESTRA 2	MUESTRA 3
	MERCADO	AC. MAÍZ	AC. OLIVA	AC. SOJA
Humedad (%)	10.75±0.15	6.75±0.71	9.12±0.91	5.04±0.71

Las masas a base de harina de arroz requieren una hidratación muy alta, lo que explicaría el comportamiento de la humedad. Por lo tanto, una disminución en la dureza puede considerarse como una consecuencia de un aumento en el contenido de humedad de las galletas preparadas con la adición de diferentes tipos de aceites vegetales. Kuraishi, *et al.* (2001). Estos resultados obtenidos coinciden con lo señalado por Greethead, *et al.*, 1969; Aboud *et al.*, 1985, quienes señalan que una masa realizada con grasas líquidas, provocan una carencia en la aireación de las mismas son más plásticas y atrapan menos volúmenes de humedad en la masa final.

Ensayos de textura

En la Tabla 2, se muestran los parámetros obtenidos para: Dureza al corte, Distancia, Coeficiente de Elasticidad y Área. Las galletitas elaboradas con Ac. Oliva presentan la menor resistencia o Dureza al corte (N), y las elaboradas con Ac. Soja la mayor. Esta observación nos estaría indicando que las masas elaboradas con Ac. Soja son más rígidas, dado que se precisa una mayor cantidad de fuerza para provocar un determinado grado de fractura y por ende un mayor Coeficiente de Elasticidad. Estas observaciones están relacionadas con no sólo con la humedad final de la masa, tal como se lo señalara en el apartado anterior, sino también con la Dureza de la masa, y de acuerdo con lo señalado por Sudha *et al.* (2007), los resultados obtenidos en el presente trabajo coinciden con los autores citados, quienes encontraron una alta correlación positiva entre la masa y la dureza en galletitas elaboradas también con harina de arroz y diferentes tipos de materia grasa.

Es decir, las galletitas dulces, libres de gluten elaboradas con Ac. Soja y Maíz presentan una textura más dura con respecto aquellas elaboradas con Ac. De Oliva o con margarina, como es el caso de las galletitas dulces tomadas como referencia.

Tabla 2. Dureza al corte, Distancia, Coeficiente de elasticidad, y Área en galletitas dulces libres de gluten.

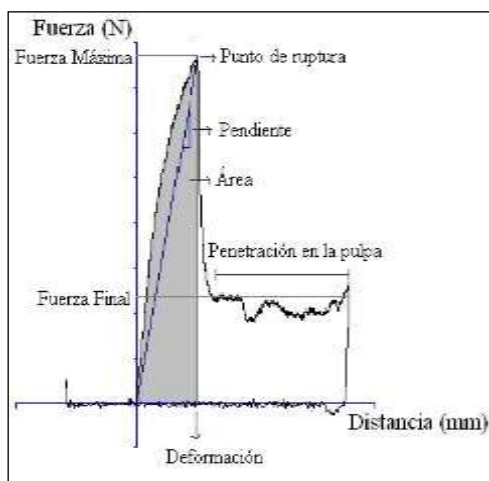


Figura 3. Curva fuerza – deformación.

Esta penetración produjo la rotura irreversible. Después de este punto, la fuerza disminuyó demostrando que el interior de las galletitas, es mucho más blanda que la superficie.

Las variables que se tuvieron en cuenta para evaluar la textura son las que se mencionan a continuación (Giese, 1985):

Dureza al corte o Resistencia a la fractura: definida como el valor de la fuerza medida en Newton (N) necesaria para producir la fractura de la superficie de las galletitas, en el punto máximo que alcanza la curva que corresponde al punto de ruptura de la superficie de las mismas.

Área: calculada como el área bajo la curva de fuerza-deformación, medida en N×mm, hasta el punto de ruptura, una vez alcanzada la fractura de las galletitas analizadas. Representa una medida del trabajo o energía necesaria para fracturar las mismas.

Distancia: calculada como la longitud en el eje de abscisas de la curva de fuerza-deformación, medida en mm, hasta el punto de ruptura de las galletitas.

Coeficiente de Elasticidad: que corresponde a la pendiente de la curva de fuerza-deformación medida en N/mm desde el origen al punto de ruptura o fuerza máxima, calculado como el cociente entre dicha fuerza y la distancia, descrita en los párrafos anteriores.

Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos para las distintas mediciones se analizaron estadísticamente con software Statgraphics® Centurion XV Corporate mediante Análisis de Varianza (ANOVA) y para cada una de las variables analizadas se realizaron Pruebas de Múltiples Rango (p-valor < 0.05).

PARÁMETROS DE TEXTURA	REFERENCIA MERCADO	MUESTRA 1 AC. MAIZ	MUESTRA 2 AC. OLIVA	MUESTRA 3 AC. SOJA
DUREZA (N)	28.1±5.13 ^a	127.8±29.03 ^b	84.90±23.82 ^c	180.4±33.14 ^d
DISTANCIA (mm)	2.2±0.84 ^a	10.6±3.97 ^b	7.6±1.12 ^c	3.9±0.74 ^d
COEF. ELAST. (N/mm)	16.8±7.4 ^a	14.2±6.5 ^b	11.90±3.85 ^c	45.6±11.38 ^d
AREA (N.mm)	52.0±21.61 ^a	1457.6±648.7 ^b	672.7±209.28 ^c	702.6±229.54 ^d

(*) Letras distintas indican diferencias significativas entre las medias (p-valor < 0.05).

En las Figuras 4 a 7. Se muestran la fuerza promedio necesaria para romper las distintas muestras de galletitas analizadas.

Para todos los casos analizados el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, por lo que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las media, con un nivel del 95,0% de confianza, para los tres tipos de galletitas analizadas.

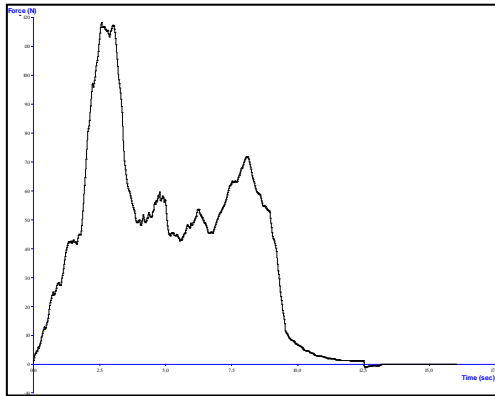
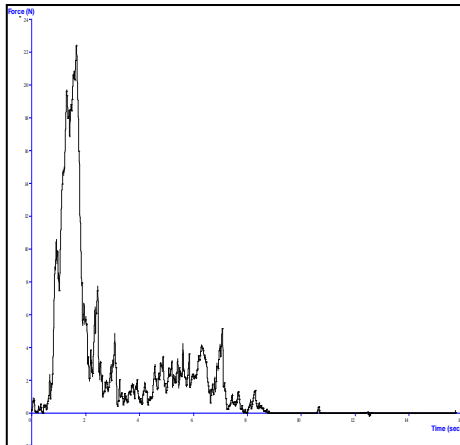


Figura 4. Dureza al corte en muestra de galletitas



de
referencia.

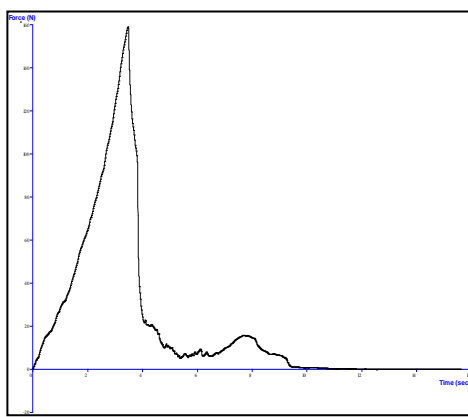


Figura 5. Dureza al corte en muestra de galletitas elaboradas con Ac. Maíz.

Figura 6. Dureza al corte en muestra de galletitas elaboradas con Ac. Oliva.

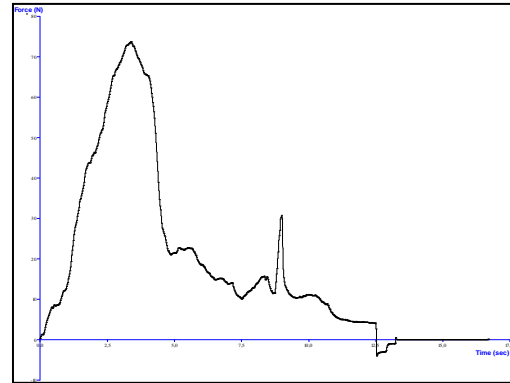


Figura 7. Dureza al corte en muestra de galletitas elaboradas con Ac. Soja.

Diversos autores han informado que las galletitas preparadas con harinas que contienen un mayor contenido de proteína resultan con una estructura más dura, Gaines *et al.* (1992); Moiraghi *et al.* (2011), como producto de una fuerte adhesión entre las proteínas y almidón. Para el presente estudio, las diferencias halladas, y descritas en los párrafos anteriores, estarían relacionadas con los diferentes tipos de aceites vegetales utilizados.

Área

El ANOVA señaló un p-valor = 0,0000; por lo que hay diferencias entre las medias de los valores obtenidos para este parámetro.

Según se observa en la Tabla 2, para las galletitas elaboradas con Ac. Maíz se requirió mayor trabajo o energía, para fracturar o fracturar las mismas. Las galletitas elaboradas con Ac. De Oliva presentan el menor valor para éste parámetro.

Distancia

En la Tabla 2, se observan los valores media correspondiente a la distancia desde el origen al punto de ruptura, obtenida en la curva fuerza-deformación, para los cuatro tipos de galletitas analizados. Los mismos representan en forma análoga, el tiempo necesario para romper la superficie de las galletitas, siendo el menor valor observado para las muestras de galletitas elaboradas con Ac. Soja. Además otros autores como Gallagher *et al.* (2003), señalan que éste parámetro está relacionado con una galletita que es más flexible, y que la misma se doblará antes de que se rompa, observándose una distancia más larga. Por lo tanto las características de flexión más pronunciadas

(flexibilidad), se observan en las galletitas elaboradas con Ac. De Maíz.

Coefficiente de Elasticidad

En la Tabla 2, se observan los valores promedios obtenidos para los cuatro tipos de galletitas estudiadas. Con respecto a éste parámetro, las galletitas elaboradas con Ac. Soja presentan el mayor valor, teniendo en cuenta que éstas registran la mayor Dureza al corte (N) o resistencia, y la menor distancia (mm) en la curva de Fuerza-deformación. Esta observación estaría relacionada también con el menor contenido de humedad observado. Resultando galletitas más secas y difíciles de fracturar, comparadas con la referencia que tiene en su composición margarina como materia grasa. Tal como lo señalaran, Hamm y Hamilton, 2004 el agregado de margarina favorece la retención de aire y resultando masas menos dura y resistentes al corte. Sin embargo, las masas que contienen aceites vegetales líquidos retienen menos aire y humedad, presentando una mayor resistencia o dureza al corte.

4. Conclusiones

Los parámetros estudiados, Humedad, Dureza, se analizaron en forma conjunta con el Área, y el coeficiente de Elasticidad, para los cuatro tipos de galletitas dulces libres de gluten elaboradas con diferentes tipos de aceites vegetales y enriquecidas con pasas de arándanos, se concluye que el agregado de estas últimas, no incide en la textura final y se observa que en las galletitas dulces, elaboradas con Ac. Oliva, presentan la mayor retención de agua, una menor Dureza al corte y una menor Área, indicando que se requiere una menor cantidad de energía para triturar las mismas en la boca, y por lo tanto un menor trabajo de masticación. En todos los casos analizados, se concluye que los diferentes tipos de aceites vegetales proveen de un menor contenido de Humedad, y una mayor Dureza al corte (N), esto es un factor importante que debe ser tenido en cuenta, ya que el efecto del agua junto con el tipo de aceite vegetal utilizado favorece el ablandamiento en la masa final de las mismas, asimismo el Ac. Oliva es el más rico en ácido oleico, es beneficioso para reducir el colesterol malo, aumentar el bueno, prevenir la arteriosclerosis y combatir las enfermedades del hígado, la insuficiencia hepática y el estreñimiento. Además, favorece la absorción del calcio, estimula el crecimiento y tiene efectos anticancerígenos, por lo que su uso sería beneficioso para una futura formulación comercial.

5. Referencias

AOAC (2012). *Official Methods of Analysis of AOAC*. International Gaithersburg, MD: AOAC International.

- Abboud, A. M., Rubenthaler, G. L., & Hosney, R. C. (1985). *Effect of fat and sugar in sugar snap cookies and evaluation of tests measure cookie flour quality*. Cereal Chemistry, 62, 124–129.
- Gallagher, E., O'Brien, C.M., Scannell, A.G.M. & Arendt, E.K.(2003). *Use of response surface methodology to produce functional short dough biscuits*. Journal of Food Engineering, 56, 269–271.
- Gaines CS, Kassuba A, Finney PL and Donelson JR. (1992). *Instrumental measurement of cookie hardness*. II: Application to product quality variables. Cereal Chemistry 69(2): 120–125.
- Gerzhova, A., Mondor, M., Benali, M., Aider, M. (2016). *Incorporation of canola proteins extracted by electroactivated solutions in gluten-free biscuit formulation of rice-buckwheat flour blend: assessment of quality characteristics and textural properties of the product*. International Journal of Food Science and Technology Vol. 51, pp 814–827.
- Greethad, G. F. (1969). *The role of fats in bakery products*. Food Technology in Australia, 21, 228–230.
- Hamm, W., & Hamilton, R. J. (2004). *Edible oil processing*. England. Sheffield Academic Press Ltd.
- Giese J. (1995). *Measuring physical properties of foods*. Food Technology. Vol. 49 Núm. 2.
- Jaren Ceballos, M.C. (2009). *Propiedades físicas de productos agroalimentario*. Universidad Pública de Navarra. Dpto de Proyectos e Ingeniería Rural, España.
http://www.unavarra.es/organiza/doctorado_tec_IIA_A.htm
- Kuraishi C, Yamazaki K and Susa Y. (2001). *Transglutaminase: Its utilization in the food industry*. Food Reviews International 17(2): 221–246.
- Lozano, J. E.; Añon C.; Parada Arias, E.; Barbosa Canovas G. (2000). *Food Preservation Technology Series Trends in Food Engineering*. Pag. 137-138; Technomic Publishin Co, Inc.; Lancaster Pennsylvania.
- Malleret, A.; Stechina D., Zapata L. M., Betoret Vals N. (2010). Copilador: Vuarant Carlos O.-*Retención de la Capacidad Antioxidante en Deshidratación Osmótica-Arándanos Avances Científicos Tecnológicos en la Región de Salto Grande*. 1º Edic. Universidad Nacional de Entre Ríos -Facultad Ciencias de la Alimentación. Pág. 58 al 68-ISBN 978-950-698-243-0.
- Moiraghi M, Vanzetti L, Bainotti C, Helguera M, Leon A and Perez G. (2011). *Relationship between soft wheat flour physicochemical composition and cookie-making performance*. Cereal Chemistry 88(2): 130–136.
- Sierra Pérez, E. (2003). *Epidemiología de la enfermedad celíaca*. Boletín de la Sociedad de Pediatría de Asturias, Cantabria, Castilla y León. Vol. 43, pp. 317-320.
- Sudha, M.L., Srivastava, A.K., Vetrmani, R. & Leelavathi, K. (2007). *Fat replacement in soft dough*

biscuits: its implications on dough rheology and biscuit quality. Journal of Food Engineering, 80, 922–930.

Zapata, L. M, Heredia, A.M., Quinteros, C. F., Malleret, A. D. (2011). *Introducción A La Producción E Industrialización De Arándanos.* Facultad de Ciencias de la Alimentación-LAMAS-UNER.

39TCA. Características fisicoquímicas de carne vacuna tratada con soluciones salinas y sometidas a tratamiento de altas presiones

Physicochemical characteristics of beef treated with saline solutions and subjected to high pressure treatment

Giménez¹ Belén, Rodríguez² Hernán B., Graiver¹ Natalia, Zaritzky^{1,3} Noemi

1 Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA), CONICET, Fac. de Cs Exactas, UNLP. 47 y 116, La Plata (1900), ARGENTINA.

2 INIFTA (UNLP-CONICET), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Diag. 113 y Calle 64, La Plata, Argentina.

3 Depto. de Ing. Química, Fac. de Ingeniería, UNLP.

e-mail: belengimenez@live.com.ar

Resumen

La alta presión hidrostática (APH) es un método de conservación utilizada en alimentos para prolongar su vida útil. El objetivo del trabajo fue estudiar el efecto del tratamiento de APH y la concentración salina sobre las características fisicoquímicas de un producto cárnico. Se utilizaron discos de carne vacuna, se sumergieron (2.5h) en una solución que contenía NaNO₂, ácido ascórbico y NaCl (30 o 60 g/L). Las muestras se envasaron al vacío y se les aplicó el tratamiento de APH. Se estudió el efecto de APH sobre las proteínas del producto utilizando Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) y Espectroscopía Infrarroja (FTIR). Se realizó la determinación del color (escala CIE L*a*b*) mediante un colorímetro tristímulo y se midió la reflectancia difusa. Al aumentar la APH se evidenció en los termogramas de DSC la reducción de los picos correspondientes a las proteínas sarcoplasmáticas y miofibrilares; por FTIR se observó un aumento en el porcentaje de estructura desordenada. El tratamiento de APH afectó los parámetros de color, presentando las muestras tratadas a mayor presión menores valores de a* y mayores de L*. Mediante reflectancia difusa se evidenció que los preservadores químicos mejoraron la estabilidad del cromóforo (mioglobina) y disminuyeron el blanqueamiento de las muestras.

Palabras clave: Carne vacuna, Reflectancia difusa, Altas presiones, FTIR, DSC, Color.

Abstract The high hydrostatic pressure (APH) is a preservation method used in foods to extend the storage life. The objective of this work was to study the effect of APH and the saline concentration of the chemical treatment on the physicochemical characteristics of a meat product. Beef discs were used, they were immersed (2.5h) in a solution containing NaNO₂, ascorbic acid and NaCl (30 or 60 g/L). The samples were vacuum packed and the APH treatment was applied. The effect of APH on the proteins of the product was studied using Differential Scanning Calorimetry (DSC) and Infrared Spectroscopy (FTIR). The color determination (CIE scale L*a*b*) was carried out using a tristimulus colorimeter and measuring diffuse reflectance. When increasing pressure in APH treatment DSC thermograms showed the disappearance of peaks due to the denaturation of sarcoplasmic and myofibrillar proteins; by FTIR an increase in the percentage of disordered structure was evidenced. The APH treatment affected color parameters; the samples treated at higher pressure had a lower value of a* and a higher value of L*. Diffuse reflectance spectrophotometry evidenced that chemical preservatives improved the stability of the chromophore (myoglobin) decreasing the discoloration of the samples

Keywords: Beef, Diffuse reflectance, High pressure, FTIR, DSC, Color.

1. Introducción

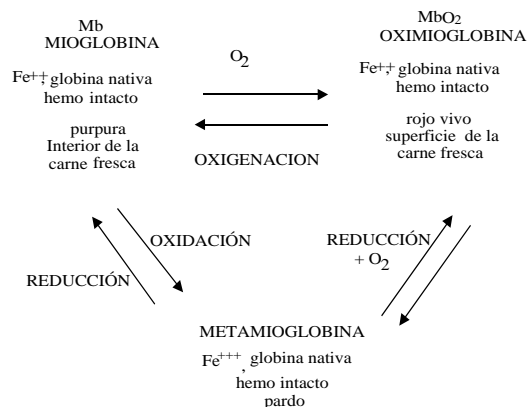
Uno de los objetivos principales del tratamiento de alimentos es mejorar su calidad y conseguir una mayor vida útil, además de lograr una atractiva presentación para el consumidor.

En los últimos años se han introducido diferentes tecnologías emergentes para la conservación de alimentos como el calentamiento utilizando microondas, radiofrecuencia, alta presión hidrostática (APH), campos eléctricos pulsados de alta intensidad, ultrasonido, etc., debido a las consecuencias indeseables que provocan los tratamientos térmicos (pasteurización, escaldado, esterilización) sobre muchos productos, como por ejemplo la disminución del valor nutricional del alimento.

La tecnología de altas presiones hidrostáticas (APH) es una de estas tecnologías emergentes. Se basa en la aplicación de presiones entre 100 y 900 MPa por tiempos cortos a alimentos envasados en vacío que luego se conservan bajo refrigeración. Estos tratamientos permiten extender la vida útil de los productos sin alterar su frescura y sus propiedades nutricionales (Szerman *et al.*, 2012).

La aplicación de APH produce modificaciones conformacionales de las proteínas de la carne produciendo desnaturalización, agregación o gelificación de las mismas, alteraciones principalmente causada por la ruptura de las interacciones no covalentes proteína-proteína y la generación de nuevos enlaces inter e intramoleculares (Cheftel y Culioli, 1997, Sun y Holley, 2010).

El atractivo color rojo es una característica principal en productos cárnicos. La cantidad del pigmento influye directamente en la intensidad del color rojo, pero no es el único factor ya que el estado químico del pigmento es importante. En la mioglobina el átomo de hierro está como Fe^{+2} confiriendo color púrpura a la carne bovina (Esquema 1); este estado de oxidación se mantiene en la oximioglobina (color rojo brillante por complejación de la mioglobina con el oxígeno). Cuando el hierro se oxida a Fe^{+3} se forma metamioglobina (marrón).



Esquema 1: Estados químicos de la mioglobina.

Al aplicar APH a niveles superiores a 300 MPa en carne bovina se afectan los parámetros de color, atenuando significativamente la tonalidad roja característica en la carne. Para contrarrestar este efecto se necesita un tratamiento previo con preservadores químicos como el nitrito que permita la formación de nitrosomioglobina, proteína más resistente a las altas presiones, manteniendo un color adecuado en la superficie de la carne (Giménez *et al.*, 2015).

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del tratamiento de alta presión hidrostática y la concentración salina sobre las características fisicoquímicas en un producto cárnico sometido a un tratamiento no térmico de conservación.

2. Materiales y métodos

2.1. Selección de las materias primas

Se utilizaron cortes vacunos de cuartos traseros (nalga, músculos adductor femoris y semimembranosus). Los músculos se separaron luego de 48 horas postmortem y se recortó toda la grasa visible. Las materias primas tenían un valor de pH entre 5.4 y 5.7.

2.2. Caracterización de la materia prima: análisis de composición centesimal del tejido cárnico

Se determinó el contenido inicial de humedad, proteínas, lípidos y cenizas en la carne fresca. Todos los análisis se realizaron por duplicado. La humedad se determinó mediante el método 24.002, AOAC, 1984). El contenido de ceniza se determinó por el método 24.009, AOAC, 1984. Para el porcentaje de proteína total se utilizó el método de Kjeldahl (método 24.027, AOAC, 1984). Se determinó el porcentaje de lípidos por el método de Soxhlet (método 24.005, AOAC, 1984).

2.3. Determinación de pH y Actividad acuosa

El pH de la carne fresca se determinó por duplicado mediante un electrodo de vidrio de inserción (Cole.Palmer, cat u-05998-20) conectado a un pHmetro (Hach Sension pH 3, Loveland USA).

La determinación de a_w se realizó en un equipo Aqua Lab Serie 4 (Decagon Devices, USA) calibrado con una solución de K_2SO_4 ($a_w = 0.979 \pm 0.005$) y agua bidestilada ($a_w = 1$). Las medidas fueron realizadas a $25^\circ C$ por duplicado.

2.4. Tratamiento con solución salina de preservadores químicos

El proceso incluyó una etapa de inmersión (2.5 h) en una solución preservadora compuesta por 0.62 g/L $NaNO_2$, 8.5 g/L ácido ascórbico y cloruro de sodio en dos concentraciones: 30 g/L (S1) o 60 g/L (S2), en secciones de carne bovina de 3 mm de espesor y 6 cm de diámetro.

2.5. Envasado de las muestras y aplicación del tratamiento de APH

Las muestras de carne se envasaron al vacío en bolsas Cryovac BB4L (Sealed Air, Buenos Aires, Argentina) y se sometieron al proceso de APH. Este tratamiento se llevó a cabo en un sistema de Stansted Fluid Power (modelo FPG9400:922, cilíndrico de 2 litros de capacidad, presión máxima de trabajo 900 MPa, rango de temperatura: de -20 a $120^\circ C$) en el Laboratorio del INTA Castelar. La velocidad de presurización con la que opera el equipo es de 300 MPa/min y la despresurización se realizó instantáneamente. Se utilizaron seis niveles de presión (100, 200, 300, 400, 500 y 600 MPa), el tiempo de mantenimiento de la alta presión en el equipo fue de 5 min. La temperatura de trabajo fue $20^\circ C \pm 5^\circ C$.

2.6. Determinaciones de cloruro y nitrito

La cantidad de NaCl presente en el tejido después del tratamiento se determinó mediante un electrodo selectivo (Cole-Parmer 27.502-12) y la determinación de nitrito se llevó a cabo utilizando el kit Hach Nitriver 3 (método 371), siguiendo el procedimiento utilizado por Graiver et al. (2006). Las determinaciones se realizaron por duplicado.

2.7. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

Se analizó la desnaturalización proteica por efectos de la difusión de las sales de curado seguida del tratamiento de alta presión a través de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC Q100 controlada por el módulo TA 5000 (TA Instruments, New Castle,

Delaware, USA). Se obtuvieron muestras de 9-10 mg que fueron colocadas en cápsulas de aluminio y selladas herméticamente. Se empleó una velocidad de calentamiento en el DSC de $10^\circ C/min$ en el rango de 20 a $100^\circ C$ utilizando como referencia una cápsula vacía. Cada ensayo fue realizado utilizando al menos cuatro muestras.

2.8. Espectroscopía Infrarroja (FTIR)

Los espectros FTIR de las muestras de carne se registraron utilizando un Espectrómetro infrarrojo Nicolet™ iS™10, Thermo Scientific™, (Madison, USA) equipado con un accesorio de reflectancia total atenuada (ATR) de diamante. El análisis se realizó a temperatura ambiente. Los espectros FTIR se obtuvieron de 400 a 4000 cm^{-1} con 32 escaneos a 4 cm^{-1} de resolución. La interferencia de fondo se eliminó usando el software Omnic 8 (Thermo Scientific™, Madison, USA).

Uno de los inconvenientes que surgen cuando se quieren interpretar los espectros FTIR, es el solapamiento de las bandas que se producen en las diferentes longitudes de onda, causadas por la absorción de la radiación, a determinadas frecuencias, por los diferentes enlaces moleculares que vibran a esas mismas frecuencias. La suma de todas estas bandas forma el espectro compuesto. Una de las técnicas que permite visualizar las bandas que componen el espectro compuesto es la deconvolución de Fourier (FSD). Se realizó la deconvolución en la región de la amida I ($1600-1700\text{ cm}^{-1}$) para poder identificar las estructuras secundarias presentes en las proteínas. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

2.9. Determinación de parámetros de color

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

2.10. Reflectancia Difusa

Los estudios de color se complementaron con la determinación de los espectros de reflectancia difusa que fueron obtenidos en un espectrofotómetro UV-visible de doble haz marca PG Instruments modelo T90+, equipado con accesorio de esfera integradora perteneciente al INIFTA (CONICET, UNLP). Se interpuso una placa de cuarzo (2 mm de espesor) entre las muestras y la esfera para evitar la contaminación de la misma, utilizándose $BaSO_4$ con la misma placa como referencia del 100% de

reflectancia. Se seccionaron muestras circulares de carne (3 cm de diámetro, 4 mm de espesor) que se ajustaban a las dimensiones del porta-muestras del equipo. Se registraron medidas entre 400 y 800 nm.

Se determinaron los espectros de muestras de carne conteniendo los pigmentos metamioglobina, oximioglobina o nitrosomioglobina. Para ello se modificó el estado de la mioglobina siguiendo tres protocolos. La mioglobina de las muestras de carne fresca fue convertida a metamioglobina mediante la inmersión de las mismas en ferrocianuro de potasio 1% durante 3 minutos, una vez escurridas las muestras y secadas se envasaron en una bolsa plástica permeable al oxígeno durante 12 h a 4 °C para que se lleve a cabo la oxidación del pigmento. Para la formación de oximioglobina se expusieron las muestras de carne en un ambiente oxigenado a 4 °C durante 2 h y se midió la reflectancia difusa inmediatamente. Para obtener nitrosomioglobina las muestras de carne fresca fueron inmersas en una solución compuesta por 2g/L NaNO₂, 30g/L NaCl y 8.5 g/L ácido ascórbico, durante 2.5 h, una vez escurridas y secadas fueron envasadas al vacío.

2.11. Análisis Estadístico

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

3. Resultados

3.1. Composición de la carne

La composición centesimal de la carne se presenta en la **Tabla 1**, los valores encontrados están dentro del rango esperado para este tipo de productos según los datos publicados por la USDA.

Tabla 1: Composición centesimal de la carne vacuna

Componente	Contenido (g/100 g de carne)	Contenido (g/100 g de carne) según USDA
Humedad	72.65 ± 0.80	72.16
Proteínas	20.60 ± 0.07	20.67
Lípidos	5.75 ± 0.07	6.21
Cenizas	1.10 ± 0.01	0.96
Hidratos de carbono	0.10 ± 0.01	0.00

± corresponde al error estándar de la media

3.2. pH y Actividad acuosa

Las muestras cárnicas utilizadas presentaron un valor de pH entre 5.4 y 5.7, y la actividad acuosa del producto un valor medio de 0.950±0.005.

3.3. Determinaciones de cloruro y nitrito

Las concentraciones de nitrito de sodio y cloruro de sodio en las muestras cárneas luego del tratamiento fueron para las muestras sumergidas en la solución S1, 0.0026± 0.0006 g NaNO₂/100 g tejido cárnico y 1.95±0.72 g NaCl/g tejido cárnico y para las muestras sumergidas en la solución S2, 0.0041± 0.0003 g NaNO₂/100 g tejido cárnico y 5.24±0.53 g NaCl/g tejido cárnico, cumpliéndose con lo que establecido en la normativa vigente. El uso de NaNO₂, KNO₃ o de su combinación no debe superar los 200 ppm (0.2 mg / g), expresado en NaNO₂ en el producto final (USDA-FSIS 1999).

3.4. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

Los termogramas de la carne obtenidos por DSC se vieron afectados por los diferentes niveles de presión del tratamiento APH y por la composición de la solución de inmersión, como se muestran en la Figura 1.

Se observaron diferentes picos de transición particularmente en la carne fresca. Los primeros picos registrado entre 50 y 70 °C representan el rango de temperatura de desnaturalización de la miosina y el último pico entre 74-84 °C está relacionado con la desnaturalización de actina (ambas proteínas miofibrilares).

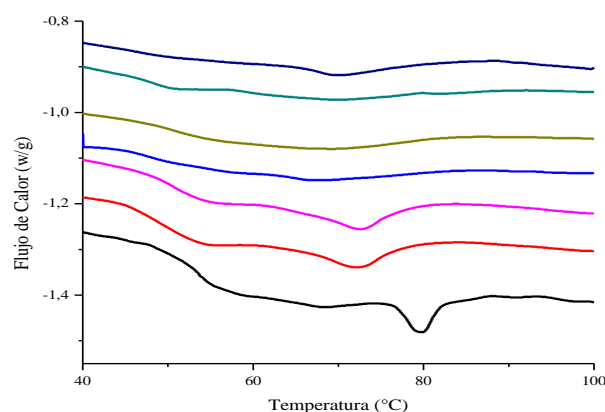


Figura 1: Termograma obtenido por calorimetría diferencial de barrido (DSC) de carne fresca (—), carne sumergida en la solución de inmersión S1 (3%) (—) y carne sumergida S1 y sometida a 400 MPa (—) y a 600 MPa (—) y carne sumergida en la solución de inmersión S2 (6%) (—) y carne sumergida S2 y sometida a 400 MPa (—) y a 600 MPa (—).

Al analizar los termogramas para las muestras tratada con APH en el rango de presiones entre 100 y 600 MPa, se observa una disminución en el área de los picos de las proteínas miofibrilares. A partir de 500 MPa desaparecen los picos no pudiéndose determinar la entalpía. La presurización favorece la desnaturalización proteica. Presiones del orden de 100-300 MPa inducen una desnaturalización reversible y presiones superiores a 300 MPa provocan la desnaturalización irreversible de las proteínas (Hoover *et al.*, 1989). La desnaturalización parcial de la proteína causada por los tratamientos de APH estaría relacionado con la desestabilización de interacciones no covalentes en estructuras terciarias y secundarias (Chapleau *et al.*, 2004). Para el caso de las muestras tratadas con los preservadores químicos y no sometidas a APH, se observó la disminución de la entalpía total con respecto a la carne fresca; esto podría deberse a la adición de NaCl. Barbut *et al.* (1991) estudiaron el efecto que produce la adición de NaCl, KCl o MgCl₂ en diferentes concentraciones (12.5, 25 y 50 g/L) en carne vacuna y concluyeron que un incremento en la concentración de las sales desestabiliza térmicamente a la miosina y a la actina.

3.5. Espectroscopía Infrarroja (FTIR)

La banda de la Amida I localizada entre 1600 y 1700 cm⁻¹ (Figura 2) fue investigada debido a que esta región es más sensible a cambios en las proteínas miofibrilares (Martinez *et al.*, 2017). Se obtuvieron los espectros de deconvolución de esta región para mejorar la resolución espectral y para obtener una visión de los cambios en las estructuras secundarias, tales como hoja β (β -Sheet), α -hélice, giros β (β -Turn), así como estructuras al azar o desordenadas.

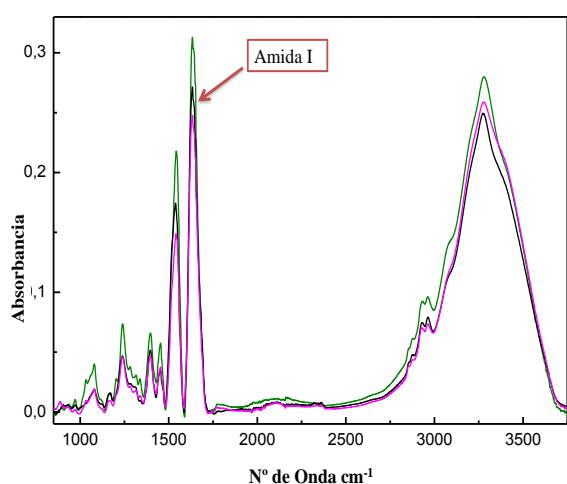


Figura 2: Ejemplo de espectro FTIR de carne fresca (—), carne sumergida S1 (3%) y sometida a 400 MPa (—) y carne sumergida S2 (6%) a 400 MPa (—).

Se encontraron cuatro bandas correspondientes a estructuras de las proteínas localizadas en las siguientes regiones de la Amida I: entre 1622-1624 cm⁻¹ correspondiente a β -Sheet; 1654-1656 cm⁻¹ a la fracción de α -Hélice, 1673-1678 cm⁻¹ a β -Turn y una banda en 1640 cm⁻¹ correspondiente a una estructura desordenada.

En el ensayo se encontró que al someter las muestras a APH se produce una disminución del contenido de α -hélice y un aumento del contenido de estructura desordenada respecto a la carne sin tratamiento (Figura 3, 4 y 5). Estos cambios inducidos por APH indican que las presiones producen un desdoblamiento parcial de las proteínas debido a la modificación de las interacciones no covalentes que estabilizan la estructura secundaria (Martinez *et al.*, 2017).

Se observa que las muestras tratadas con la solución de inmersión presentaron una mayor estabilidad a las altas presiones, observándose una disminución más atenuada en el porcentaje de α -Hélice. Al comparar el efecto de las concentraciones de cloruro de sodio (S1 y S2) las muestras que tenían mayor cantidad de NaCl, resultaron menos estables; esto puede estar relacionado con la desestabilización que produce esta sal en las proteínas. (Graiver *et al.*, 2006). (Figuras 4 y 5).

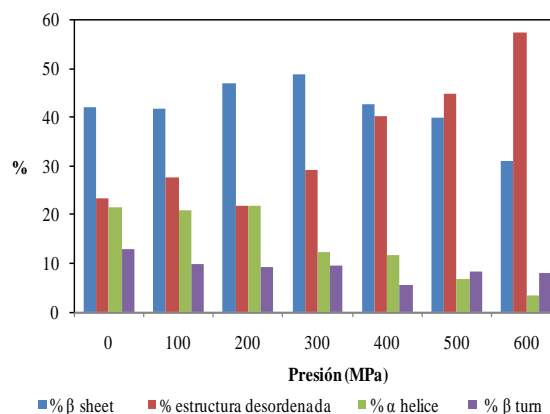


Figura 3: Porcentaje de estructuras de proteínas (β -Sheet, Estructura desordenada, α -Hélice, β -Turn) de muestras de carne fresca sometida a diferentes presiones (100-600 MPa).

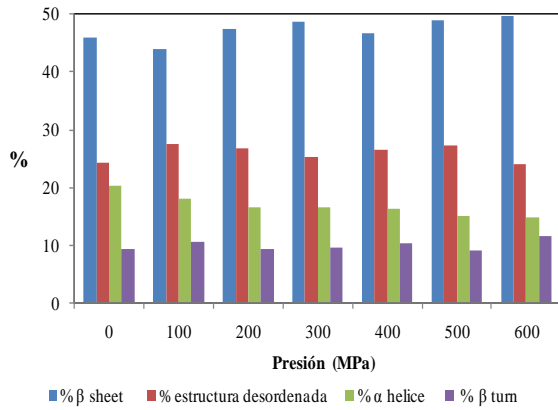


Figura 4: porcentaje de estructuras de proteínas (β -Sheet, Estructura desordenada, α -Hélice, β -Turn) de carne sumergida en la solución S1 (3%) y luego sometida a diferentes presiones.

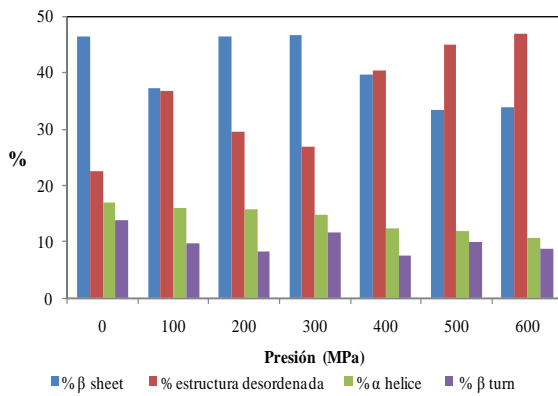


Figura 5: porcentaje de estructuras de proteínas (β -Sheet, Estructura desordenada, α -Hélice, β -Turn) de Carne sumergida en la solución S2 (6%) y luego sometida a diferentes presiones.

3.6 Determinación de color

En la Figura 6 se observa la variación del color en las distintas muestras de carne sometidas dos niveles de presión utilizados (100 y 600 MPa). Se observa un mayor efecto de blanqueamiento (decoloración) en las muestras sometidas a alta presión sin un tratamiento previo con preservadores químicos.

El tratamiento con la solución preservadora conteniendo nitrito produce la formación de nitrosomioglobina que es más estable y se encuentra en mayor proporción cuando se utiliza una mayor concentración de NaCl, ya que la presencia de cloruro de sodio facilita la difusión del nitrito de sodio en el tejido (Graiver *et al.*, 2006).

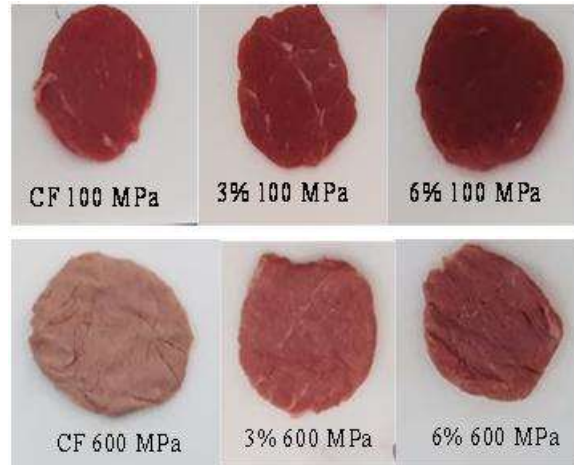


Figura 6: Cambios de coloración en muestras cárnicas frescas (CF) y tratadas con 3 y 6 % de NaCl sometidas a 100 y 600 MPa.

Las diferentes condiciones de tratamiento previo a APH (S1, S2 o control), las presiones empleadas y la interacción entre los dos factores, influyeron significativamente ($P < 0.05$) en los parámetros de color.

La luminosidad (L^*) de las muestras aumentó significativamente ($P < 0.05$) al incrementarse la presión (Figura 7) y varió significativamente con el tratamiento de curado. Esto puede deberse a que los tratamientos de alta presión conducen a cambios en la estructura de las proteínas miofibrilares, provocando despolimerización como principal efecto (Cheftel y Culioli, 1997; Suzuki *et al.*, 2006). Estos cambios en la estructura podrían explicar el aumento de la luminosidad como un incremento de la relación de la luz reflejada y absorbida por el material (Campus *et al.*, 2008).

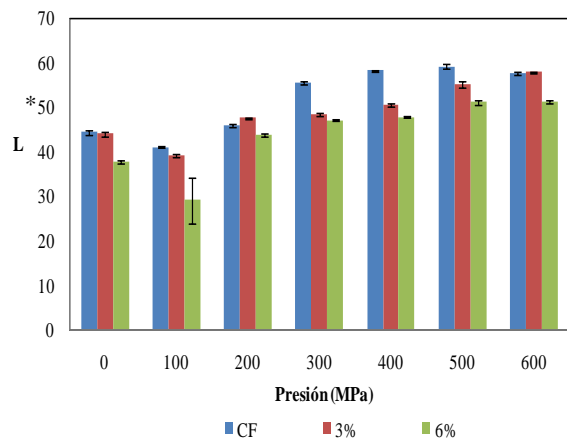


Figura 7: Variación de la luminosidad (L^*) de las muestras cárnicas en función de las condiciones de curado a las diferentes presiones ensayadas.

En las muestras que no fueron tratadas con la solución de inmersión (CF), el proceso de APH provocó una disminución del valor de a^* (Figura 8);

esto se debe a que la mioglobina (proteína sarcoplásmica), responsable del color rojo de la carne, no es estable a las altas presiones, oxidándose a metamioglobina (Rubio *et al.*, 2007).

En cambio el valor de a^* se incrementó con el aumento de la presión en las muestras sumergidas en la solución de inmersión, lo cual podría atribuirse a la formación de nitrosomioglobina, proteína más estable a las altas presiones debido a su mayor resistencia a la oxidación que la mioglobina y la oximioglobina (Rubio *et al.*, 2007). El incremento del valor de a^* con la presión de trabajo indicaría que la misma favorece la formación de nitrosomioglobina acentuando la coloración rojiza. En función de la solución de inmersión, las muestras que tienen mayor concentración de NaCl presentaron valores de a^* mayores, lo cual está relacionado con la mayor difusión efectiva de NaNO_2 favorecida por el NaCl (Graiver *et al.*, 2006).

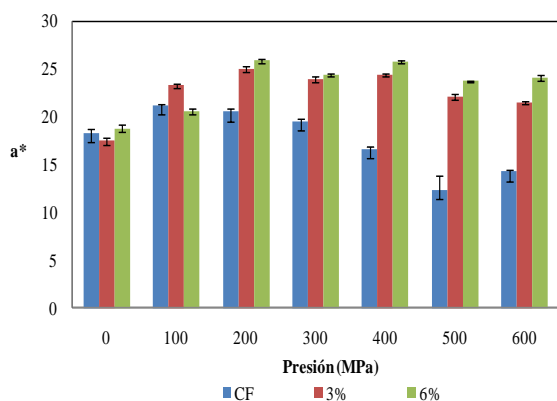


Figura 8: Variación del parámetro a^* de las muestras cárnicas en función de las condiciones de curado a las diferentes presiones ensayadas.

3.7. Reflectancia Difusa

La reflectancia difusa es un método no destructivo para determinar la concentración relativa de los diferentes pigmentos. La reflectancia difusa se refiere a la fracción de la luz incidente que es reflejada por una superficie, que ha sido parcialmente absorbida y parcialmente dispersada como resultado de su penetración en el interior de la muestra, y que presenta una distribución angular de reflexión (a diferencia de la reflexión especular que es direccional). La teoría más comúnmente aceptada sobre la reflectancia difusa ha sido desarrollada por Kubelka y Munk (Wendlandt y Hecht, 1966; Kortüm, 1969) y es válida para muestras poco absorbentes en sistemas reflectantes difusos.

En el marco de esta teoría, la carne se puede considerar como una matriz de material celular capaz de dispersar la luz, constituida por proteínas miofibrilares, tejido conectivo y pigmentos

responsables de la absorción de la radiación (McDougall, 1970). La intensidad de la luz reflejada, y por lo tanto su color y apariencia, se rige por la interrelación entre la luz dispersada por componentes en el sistema, y la concentración y propiedades espectrales de absorción de los pigmentos. Los pigmentos rojos absorben luz en el espectro visible mientras que las estructuras no coloreadas y las proteínas miofibrilares dispersan y absorben (Bevilacqua y Zaritzky 1986).

En la Figura 9 se puede observar el efecto de las altas presiones hidrostáticas sobre la reflectancia difusa de las muestras cárnicas no sometidas a tratamiento químico con soluciones salinas.

Al someter las muestras a mayores presiones se produce un cambio en la matriz evidenciado por un aumento en los valores de reflectancia, lo cual lleva a un blanqueamiento de las muestras. Esto coincide con lo observado en las fotografías de la Figura 6.

Asimismo se observan modificaciones en los cromóforos (mioglobina en sus distintos estados) que están determinadas por los cambios en las reflectancias en el intervalo entre 500 y 600 nm. Esto se puede correlacionar con los valores de cromaticidad L^* y a^* (sección 3.6), donde se observa que a mayor presión aumentan los valores de L^* , indicando un efecto de blanqueamiento de la carne, que se vincula con los aumentos registrados en la reflectancia de las muestras.

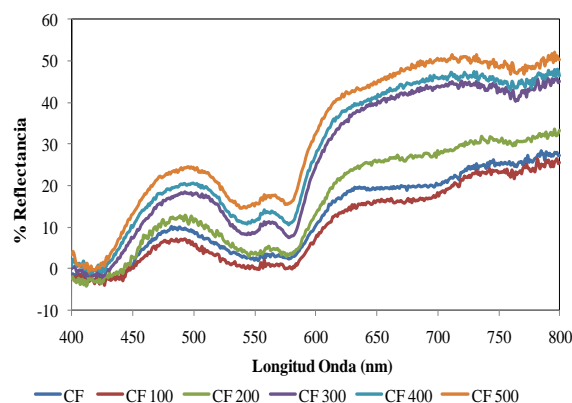


Figura 9: Espectros de reflectancia difusa de la carne sin tratamiento químico sometida a diferentes niveles de presión.

Para poder determinar las concentraciones o variaciones en los pigmentos de la carne, en el marco de la teoría Kubelka-Munk se puede calcular, a partir de la reflectancia difusa de muestras cárnicas ópticamente gruesas (transmitancia despreciable), la función de Kubelka-Munk, $F(R_\lambda)$, a partir de la siguiente ecuación:

$$F(R_\lambda) = \frac{(1-R_\lambda)^2}{2R_\lambda} = \frac{K}{S} = \frac{\sum K_i C_i}{\sum S_i C_i} \quad (1)$$

donde R_λ es la reflectancia difusa de la muestra, K_i son los coeficientes de absorción de los pigmentos y la matriz, S_i es el coeficiente de dispersión y C_i es la concentración de cromóforos en la muestra.

Esta función es proporcional a la concentración del cromóforo. Para independizar los valores de la función $F(R)$ de los cromóforos respecto a los correspondientes a la matriz, se sustrajo el valor de dicha función evaluada a $\lambda = 750$ correspondiente a la matriz sin colorear.

En la Fig. 10 se muestran la función de Kubelka Munk ($F(R)$) para muestras de carne vacuna conteniendo metamioglobina, oximioglobina y nitrosomioglobina (curvas patrón) en función de la longitud de onda.

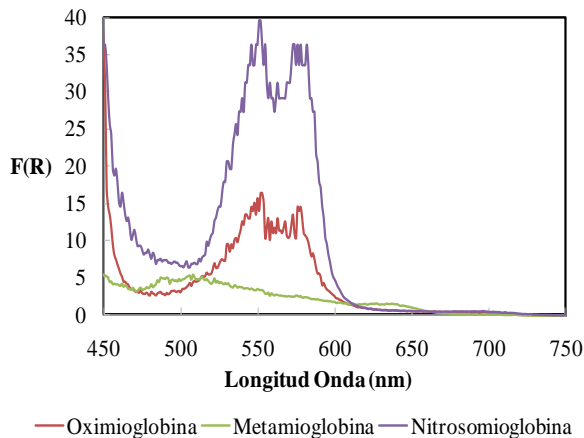


Figura 10: Espectro de la función de Kubelka Munk de carne vacuna conteniendo metamioglobina, oximioglobina y nitrosomioglobina (curvas patrón) .

En la Figuras 11 y 12, se muestran a modo de ejemplo $F(R)$ (ecuación 1), en función de la longitud de onda para carne fresca y tratada con distintas concentraciones de sal, para dos presiones diferentes (200 y 600 MPa). Puede notarse que a una presión fija a medida que aumentaba la concentración de cloruro de sodio y por lo tanto la cantidad de nitrito en el tejido, se incrementó el valor de $F(R)$, lo cual indica una mayor concentración del cromóforo fundamentalmente nitrosomioglobina cuyo espectro representado como $F(R)$ puede observarse en la Figura 10.

Al comparar las Figuras 11 y 12 se observa que a mayor presión en el tratamiento (600 MPa) la función $F(R)$ adopta valores más bajos que a 200 MPa lo cual indicaría una menor estabilidad del pigmento a mayores presiones hidrostáticas. Obsérvese que la escala de la Figura 12 corresponde

a valores mucho más bajos de $F(R)$.

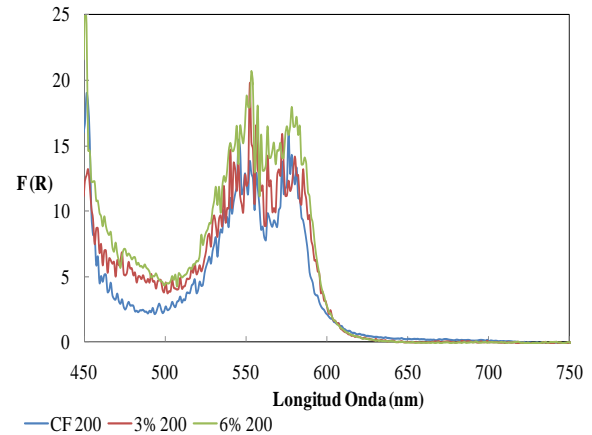


Figura 11: Espectro de la función de Kubelka Munk en función de la longitud de onda para muestras sometidas a 200 MPa.

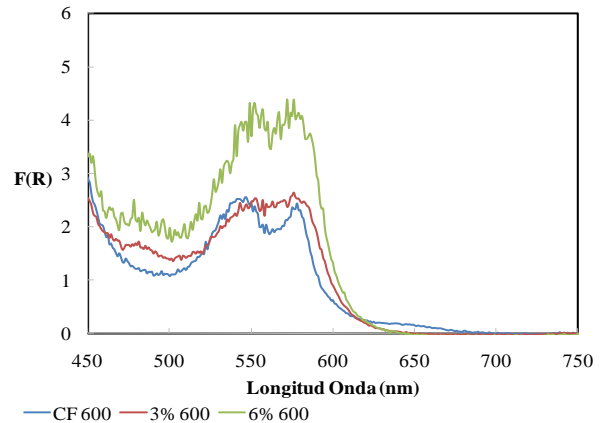


Figura 12: Espectro de la función de Kubelka Munk en función de la longitud de onda para muestras sometidas a 600 MPa.

La presencia de nitrosomioglobina estabiliza el color rojo disminuyendo la oxidación del pigmento con formación de metamioglobina. (Ver los espectros correspondientes a los pigmentos de la carne en Figura 10)

4. Conclusiones

Mediante los ensayos de DSC y FTIR se observó que las APH modificaron las estructuras de las proteínas. Se evidenció en los termogramas de DSC la desaparición de los picos correspondientes a las proteínas sarcoplasmáticas y miofibrilares cuando son sometidas a los diferentes niveles de presión y concentración de preservadores químicos. A partir de los espectros de FTIR se observó una disminución en el contenido de estructuras α -Hélice y un aumento de la estructura desordenada. Se encontró que el tratamiento de APH afectó los

parámetros de color, presentando las muestras tratadas a mayor presión un menor valor de a^* (disminución de la coloración rojiza) y un mayor valor de L^* , lo cual se pudo correlacionar con las mediciones de reflectancia difusa. Los preservadores químicos mejoraron la estabilidad del cromóforo disminuyendo el blanqueamiento de las muestras (producido por la aplicación de APH). La formación de nitrosomioglobina estabilizó el color rojo evitando la formación de metamioglobina.

Referencias

Barbut, S.; Findlay, C. (1991). *Influence of sodium, potassium and magnesium chloride on thermal properties of beef muscle*. Journal of Food Science, 56, 180-182.

Bevilacqua E.; Zaritzky N. E. (1986). *Rate of pigment modifications in Packaged refrigerated beef using Reflectance spectrophotometry*. Journal of Food Processing and Preservation 10: 1-18

Campus, M.; Flores M., Martinez A.; Toldran F. (2008). *Effect of high pressure treatment on colour, microbial and chemical characteristics of dry cured loin*. Meat Science. 80: 1174-1181

Cheftel, J. C.; Culioli, J. (1997). *Effects of high pressure on meat: A review*. Meat Science, 46, 211–236.

Chapleau, N.; Mangavel, C.; Compoint, J. P.; De Lamballerie-Anton, M. (2004). *Effect of high-pressure processing on myofibrillar protein structure*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 84(1), 66–74.

Giménez, B.; Graiver, N.; Califano, A.; Zaritzky, N. (2015). *Physicochemical characteristics and quality parameters of a beef product subjected to chemical preservatives and high hydrostatic pressure*. Meat Science, 100, 179–188.

Graiver, N.; Pinotti, A.; Califano, A.; Zaritzky, N. (2006). *Diffusion of sodium chloride in pork tissue*. Journal of Food Engineering, 77, 910–918.

Hoover, D. G.; Metrick, C.; Papineau, A. M.; Farkas, D. F.; Knorr, D. (1989). *Biological effects of high hydrostatic pressure on food microorganisms*. Food Technol, 43, 99-107.

Kortum, G. (1969). *Reflectance Spectroscopy*, Springer-Verlag, New York.

Martínez M.A.; Velazquez G.; Cando D.; Núñez-Flores R.; Borderías A.J.; Moreno H.M. (2017). *Effects of high pressure processing on protein fractions of blue crab (Callinectes sapidus) meat*. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 41 (2017) 323–329.

Mcdougall, D. B. (1970). *Characteristics of the Appearance of Meat I. The luminous absorption scatter and internal transmittance of the lean of*

bacon manufactured from normal and pale pork. J. Sci. Food Agric. 21, 568-571.

Sun, X. D.; Holley, R. A. (2010). *High hydrostatic pressure effects on the texture of meat and meat products*. Journal of Food Science, 75, 17–23.

USDA-FSIS, 1999. *Food Ingredients and Sources of Radiation Listed or Approved for Use in the Production of Meat and Poultry Products; Final Rule. Subpart C – 424.21*. Use of Food Ingredients and Sources of Radiation. Code of Federal Regulations, title 9, vol. 64, part 424. Office of Federal Register, National Archives and Records, GSA, Washington, DC, pp. 72185–72186 (Chapter III).

USDA-FSIS *United States Department of Agriculture Agricultural Research Service National Nutrient Database for Standard Reference Release 28*. Basic Report: 13973, Beef, chuck eye roast, boneless, America's Beef Roast, separable lean only, trimmed to 0" fat, choice, raw.

Rubio, B.; Martinez, B.; Garcia-Cachan, M. D.; Rovira, J. Jaime, I. (2007). *Effect of high pressure preservation on the quality of dry cured beef "Cecina de Leon"*. Innovation Food Science and Emerging Technologies, 8(7), 102-110.

Suzuki, A.; Kim, K.; Tangi, H.; Nishiumi, T.; Ikeuchi, Y. (2006). *Application of high hydrostatic pressure to meat and meat processing*. In I. M. Noller & F. Toldra (Eds.) *Advanced Technologies for Meat Processing*, 193-217.

Szerman N.; Denoya G. I.; Sanow L. C.; Ormando P.; Vranic M. L.; Vaudagna S. R.; Barrio Y. X. (2012). *Aplicación de la tecnología de altas presiones hidrostáticas en el procesamiento de alimentos*. I Congreso de valor agregado en origen; Manfredi, Córdoba; 18 al 20 de julio de 2012. <http://inta.gob.ar/documentos/aplicacion-de-la-tecnologia-de-altas-presiones-hidrostaticas-en-el-procesamiento-de-alimentos/>. Accedida el 12/11/2017.

Wendlandt, W. N.; Hecht, H. G. (1966). *Reflectance Spectroscopy*. Interscience Publishers, New York.

40TCA. Obtención y caracterización de fibras insolubles de cáscara de soja. Aplicación en el desarrollo de emulsiones alimentarias.

Obtaining and characterization of insoluble fibers from soy hulls. Application in the development of food emulsions.

Analia Cecilia Colletti¹, Dario Marcelino Cabezas^{1,2}, Jorge Ricardo Wagner^{1,2}, María Cecilia Porfiri^{1,2}.

1. Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes, Roque Sáenz Peña 352 (B1876BXD), Bernal, Buenos Aires, Argentina. 2. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Av. Rivadavia 1917(C1033AAJ), Buenos Aires, Argentina. ceciliaporfiri@conicet.gov.ar

Resumen

La cáscara de soja es un desecho agroindustrial rico en fibras poco explotado como ingrediente funcional en alimentos. En este trabajo se obtuvo la muestra HIPS (*hull insoluble polysaccharides*), la cual consiste en fibras insolubles de cáscara de soja obtenida por fraccionamiento en medio ácido y posee ~12% de proteínas. Al someter el HIPS a micronización a altas presiones se redujo el tamaño de las fibras y se incrementó significativamente su capacidad de retención de agua. También se modificaron sus características reológicas, promoviendo la organización de las fibras en una estructura gelificada, aumentando su viscosidad. Luego, se evaluó la funcionalidad del HIPS en la formulación/estabilización de emulsiones aceite en agua modelo en medio ácido. El tratamiento de micronización mejoró sustancialmente las propiedades emulsificantes del HIPS, generando emulsiones con menor tamaño de gotas y estables a procesos de desestabilización tales como coalescencia y cremado. Además, se incrementaron los parámetros viscoelásticos de las emulsiones y se aportó estabilidad reológica. Estos resultados permiten evidenciar una potencial aplicación del HIPS como ingrediente funcional rico en fibras para la formulación y estabilización de emulsiones ácidas, permitiendo el aprovechamiento de un desecho agroindustrial, agregando valor a la cadena de subproductos derivados de la soja.

Palabras clave: cáscara de soja, fibras insolubles, emulsiones.

Abstract

Soybean hull is an agroindustrial waste rich in fibers little exploited as a functional ingredient in food. In this work we obtained the HIPS sample (*hull insoluble polysaccharides*), which consists of insoluble fibers of soybean hull obtained by fractionation in acid medium and has ~ 12% of proteins. By micronization of HIPS at high pressures, the size of the fibers was reduced and their water retention capacity was significantly increased. Its rheological characteristics were also modified, promoting the organization of the fibers in a gelled structure, increasing their viscosity. Then, the functionality of HIPS was evaluated in the formulation/stabilization of model oil-in-water emulsions in acid medium. The micronization treatment substantially improved the emulsifying properties of HIPS, generating emulsions with smaller droplet size and stable to destabilization processes such as coalescence and creaming. In addition, viscoelastic parameters of the emulsions were increased and rheological stability was improved. These results allow to demonstrate a potential application of HIPS as a functional ingredient rich in fibers for the formulation and stabilization of acid emulsions, allowing the use of an agroindustrial waste, adding value to the soybean chain byproducts.

Keywords: soy hulls, insoluble fibers, emulsions.

1. Introducción

Las fibras dietarias comprenden una mezcla de carbohidratos poliméricos (tanto oligosacáridos como polisacáridos) como ser celulosa, hemicelulosa, pectinas, gomas, etc., que pueden o no estar asociados a lignina y otros componentes (polifenoles, fitatos, proteínas, etc.) (Elleuch *et al.*, 2011). Esto significa que las fibras no son un compuesto químico simple y definido sino una

combinación de sustancias químicas de diferente composición y estructura (Rodríguez *et al.*, 2006). Desde hace varias décadas el empleo de fibras de diferentes orígenes ha cobrado gran importancia en la industria alimenticia debido a los beneficios para la salud asociados con su ingesta (Elleuch *et al.*, 2011). Esto ha impulsado el desarrollo de una gran cantidad de alimentos enriquecidos con las mismas, resultando en productos saludables, de bajo contenido en calorías, colesterol y grasas. Esto dio

lugar a que actualmente exista una tendencia a encontrar nuevas fuentes de fibras dietarias, como pueden ser subproductos agronómicos que tradicionalmente fueron desestimados.

En Argentina, la soja (*Glycine max*) es una legumbre de gran importancia tanto nutricional como económica, ya que representa uno de los cultivos con mayor producción (Ridner *et al.*, 2006). Durante su procesamiento los granos son descascarados para obtener un expeller o harina proteica de mayor calidad y competitividad, generándose grandes cantidades de un subproducto residual: la cáscara de soja (Olguin *et al.*, 2009).

La cáscara de soja constituye aproximadamente el 8 % del total de la semilla y contiene alrededor de un 86 % de carbohidratos complejos. Se estima una composición de: 9-11 % de galactomananos, 10-12 % de polisacáridos ácidos, 9-10 % de xilano-hemicelulosa, 40 % de celulosa y 11 % de proteínas y péptidos. La fracción insoluble de carbohidratos de su pared celular contiene: 30 % de pectinas, 50 % de hemicelulosa y 20 % de celulosa (Gnanasambandam y Proctor, 1999; Mullin y Xu, 2000; Sessa y Wolf, 2001). Si bien actualmente la cáscara de soja se emplea para alimentación ganadera, como material para filtros y en la elaboración de pan integral, grandes cantidades siguen siendo desaprovechadas, constituyéndose en un subproducto de desecho poco estudiado pero de buen nivel nutricional y alto contenido en fibras (Alemdar y Sain, 2008; Ridner *et al.*, 2006). Además, el aprovechamiento de la misma posee otras ventajas ya que es económica, de fácil almacenamiento y transporte y se encuentra disponible en grandes cantidades, sumado a los beneficios medioambientales al emplear materiales de naturaleza renovables (Kalapathy y Proctor, 2001; Monsoor, 2005; Ridner *et al.*, 2006; Wang y Sain, 2007).

Además de los beneficios para la salud asociados con el consumo de fibras dietarias, las mismas pueden servir como ingredientes funcionales para mejorar las propiedades físicas y estructurales de muchos alimentos, como ser su textura, viscosidad, características sensoriales, estabilidad, etc., pudiendo también aumentar la capacidad de retención de agua, retención de aceite, emulsificación y/o formación de geles, entre otras propiedades.

Actualmente, el interés en la aplicación de diversos métodos químicos y/o físicos que mejoran las propiedades funcionales de las fibras es creciente, principalmente en el área alimenticia. En particular, la micronización a altas presiones es una metodología que está cobrando mucha importancia dado que reduce el tamaño de las fibras, modificando su estructura y área interfacial y aportando mejoras en sus propiedades fisicoquímicas y funcionales (Alemdar y Sain, 2008;

Ketenoglu *et al.*, 2014; Cheng *et al.*, 2016; Cheng *et al.*, 2013).

En este sentido, los objetivos de este trabajo fueron: i- obtener fibras insolubles a partir de cáscara de soja (HIPS: *Hull insoluble polysaccharides*) y evaluar el efecto de aplicar un tratamiento de micronización a altas presiones en sus características fisicoquímicas; ii- evaluar el potencial del HIPS como ingrediente funcional para la formulación/estabilización de emulsiones de aceite en agua modelo en medio ácido, con proyección para su empleo en la industria de los alimentos.

Se ensayarán principalmente emulsiones ácidas del tipo aceite en agua (O/W), con el objetivo de analizar y caracterizar su poder emulsificante/estabilizante para su posible utilización en la formulación de alimentos ácidos tales como aderezos, salsas y bebidas.

De esta manera se intenta aprovechar un desecho agroindustrial, la cáscara de soja, como herramienta rica, económica y útil en la tecnología de los alimentos. Además, se agrega valor a la cadena de subproductos derivados de la soja.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

La cáscara de soja fue cedida por las empresas Bunge y Terminal 6 S.A. (Santa Fe, Argentina). Aceite de girasol (Molinos Cañuelas, Argentina). Todos los reactivos químicos empleados en este trabajo fueron de calidad analítica.

2.2. Extracción del HIPS

La cáscara de soja fue molida hasta un tamaño de partícula $< 500 \mu\text{m}$ en un molino a cuchillas (Chincan, FW, China) durante 5 min. Se procedió a fraccionar los polisacáridos solubles e insolubles adaptando un método de extracción en medio ácido previamente optimizado por nuestro grupo de investigación (Cabezas *et al.*, 2017). Brevemente, la harina de cáscara de soja se dispersó en HCl 0,1 N en una proporción 1:15, se homogeneizó en un equipo rotor-estator (Ultraturax T-25, herramienta de dispersión S25-20NK-19G) a 25000 rpm durante 5 min, la dispersión se incubó a 90°C durante 45 min, se enfrió a temperatura ambiente y se centrifugó (7000 x g, 15 min, 4°C). El precipitado insoluble fue suspendido en agua destilada (1:10), se agitó durante 10 min y se centrifugó (7000 x g, 15 min, 4°C). Este lavado se repitió nuevamente sobre el precipitado con agua destilada y etanol sucesivamente. El precipitado insoluble se secó en estufa con circulación de aire a 40°C durante 24 hs, se molió y tamizó ($< 500 \mu\text{m}$), obteniéndose la fracción de polisacáridos insolubles, HIPS.

2.3. Análisis del HIPS

2.3.1. Análisis de compuestos nitrogenados

El contenido de proteínas en el HIPS fue determinado mediante Micro-Kjeldahl ($N \times 6,25$) empleando un procedimiento colorimétrico para la determinación del contenido de nitrógeno y sulfato de amonio para la calibración (Nkonge y Ballance, 1982).

2.3.2. Espectrometría infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

El HIPS fue analizado en un espectrofotómetro FTIR (Shimatsu Affinity-1) equipado con un accesorio de reflectancia total atenuada (ATR-8200HA) con prisma de ZnSe. La región espectral estudiada fue de 4000 a 400 cm^{-1} . Los espectros se obtuvieron mediante la realización de 30 barridos a una resolución de $4,0 \text{ cm}^{-1}$. Los datos fueron procesados con el software IR Solution.

2.4. Tratamiento mecánico de reducción de tamaño de partícula del HIPS

Se preparó una dispersión del HIPS al 1,5 % P/P en buffer citrato de sodio 8 mM, pH 3,00, en presencia de azida de sodio 0,02 % P/V para evitar crecimiento microbiano. La misma se homogeneizó en un equipo rotor-estator (Ultraturrax T-25, herramienta de dispersión S25-20NK-19G) a 25000 rpm durante 5 min, y se aplicó un tratamiento mecánico de reducción de tamaño de partícula mediante micronización por recirculación (3 ciclos) en homogeneizador a válvula (Panda 2K, GEA Niro Soavi) a diferentes presiones (300, 600, 800 y 1000 bar). De esta forma se obtuvieron diferentes dispersiones (1,5 % P/P) de fibras tratadas a diferentes presiones y la muestra no homogeneizada fue empleada como control.

2.5. Caracterización de las fibras tratadas a altas presiones

2.5.1. Distribución de tamaño de partícula (DTP)

Se analizó la DTP (expresada en % volumen) de las fibras tratadas y control mediante difracción de luz láser en un analizador de tamaño de partícula (Malvern Mastersizer 2000E, Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, U.K.) en el rango de diámetros entre 0,1 and $1000 \mu\text{m}$. Las dispersiones fueron diluidas en la unidad de dispersión (Hydro 2000MU) y los parámetros ópticos empleados fueron: índices de refracción de la partícula y agua 1,52 y 1,33, respectivamente; adsorción 0,001.

La formación de agregados se analizó mediante la DTP luego de la aplicación de ultrasonido de baja energía (40 W) durante 2 min, mediante la sonda ultrasónica provista en la unidad de dispersión (Hydro 2000MU).

2.5.2. Morfología

La morfología de las fibras tratadas por homogeneización a altas presiones y control fue estudiada mediante microscopía electrónica de barrido, SEM (SEM-LEO-EVO 40-XVP). También se aplicó ultrasonido (525W, 2 min) para evaluar la presencia de agregados. Las imágenes fueron obtenidas a varias magnificaciones.

2.5.3. Capacidad de retención de agua (CRA)

10 g de fibras tratadas y control fueron colocados en tubos de centrífuga graduados. La CRA de las mismas se evaluó mediante pérdida de peso luego de centrifugación suave ($1000 \times g$, 5 min) y separación del exceso de agua, y se expresó como $g_{\text{agua}}/g_{\text{masa seca}}$.

2.5.4. Comportamiento reológico

Se realizaron ensayos de reología oscilatoria y de flujo de las fibras tratadas y control empleando un reómetro ARG2 (TA Instruments; New Castle, DE, USA) y geometría de platos paralelos (gap $1000 \mu\text{m}$; diámetro 40 mm). La temperatura (25°C) fue controlada mediante baño de agua (Julabo ACW100, Julabo Labortechnik; Seelbach, Alemania) asociado al reómetro.

En los ensayos oscilatorios, los datos experimentales se obtuvieron mediante el registro del módulo elástico (G') y viscoso (G'') en función del porcentaje de deformación (0,1-100 %), a frecuencia constante (1 Hz), la cual se identificó dentro del rango de viscoelasticidad lineal mediante barridos de frecuencia (0,1-100 Hz, deformación 1 %). La tangente del ángulo de fase ($\tan \delta$) se calculó a partir de la ecuación 1:

$$\tan \delta = G''/G' \quad (1)$$

El comportamiento de flujo se evaluó mediante el registro de la viscosidad en función de la velocidad de cizallamiento ($0,001$ - 400 s^{-1}), 1 min a velocidad constante (400 s^{-1}) y regreso a velocidad inicial (400 - $0,001 \text{ s}^{-1}$).

2.6. Preparación de emulsiones aceite en agua (O/W)

Dispersiones de fibras tratadas y control fueron empleadas como fase acuosa para la preparación de emulsiones O/W; y aceite de girasol como fase

lipídica (fracción másica de aceite, $\Phi_m=0,3$). La homogeneización se llevó a cabo en dos etapas: i-homogeneización en equipo rotor-estator (Ultraturrax T-25, herramienta de dispersión S 25 N-10 G) a 24000 rpm durante 2 min; ii-homogeneización en sonicador ultrasónico (SONICS 135 Vibra Cell VCX750) a una potencia de 525 W, en baño de hielo.

El comportamiento de las emulsiones fue analizado inmediatamente luego de la preparación de las mismas y durante 28 días de almacenamiento a 25°C.

2.7. Distribución de tamaño de partícula de las emulsiones

La DTP de las emulsiones fue determinada mediante difracción de luz láser con un analizador de tamaño de partícula (Malvern Mastersizer 2000E, Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, U.K.) en el rango de diámetros entre 0,1-1000 μm . Las emulsiones fueron diluidas en la unidad de dispersión (Hydro 2000MU) y los parámetros ópticos aplicados fueron: índice de refracción del aceite de girasol y agua 1,47 y 1,33, respectivamente, adsorción 0,001. Los diámetros promedio Sauter se determinaron antes ($D_{3,2}$) y después ($D_{3,2,s}$) de someter a las emulsiones a sonicación de baja energía (40 W, 2 min) con la punta ultrasónica incorporada en la unidad de dispersión. El propósito de este tratamiento de sonicación fue romper los flóculos presentes (Porfiri *et al.*, 2016).

2.8. Microscopía óptica

Las micrografías de las emulsiones (dilución 1/10) fueron obtenidas con un microscopio óptico operando con un aumento de 40 \times y utilizando una cámara digital adaptada (Canon A570 IS; Malasia) con un zoom óptico de 4 \times .

2.9. Separación gravitacional

La estabilidad global de las emulsiones se caracterizó a través de un seguimiento visual de la cinética de cremado en función del tiempo (Dagornscaviner *et al.*, 1987). Inmediatamente luego de preparadas, las emulsiones se vertieron en tubos de vidrio graduados de 10 ml (tiempo cero, t_0) determinándose el volumen de fase acuosa formada a intervalos diferentes de tiempo.

El porcentaje de backscattering (%BS) fue medido empleando un analizador vertical (QuickScan, Beckman-Coulter, Fullerton, USA). El %BS de la luz monocromática ($\lambda = 850 \text{ nm}$) de las emulsiones fue determinada en función de la altura del tubo donde se encuentra la muestra (65 mm). El proceso de cremado fue analizado a través de los perfiles de

%BS de las emulsiones obtenidas a diferentes tiempos de almacenamiento.

2.10. Reología oscilatoria

La reología oscilatoria de las emulsiones fue estudiada con un reómetro ARG2 (TA Instruments; New Castle, DE, USA) y geometría de platos paralelos (gap 1000 μm ; diámetro 40 mm). La temperatura (25°C) fue controlada mediante baño de agua (Julabo ACW100, Julabo Labortechnik; Seelbach, Alemania) asociado al reómetro. Los datos experimentales se obtuvieron a través del registro de los módulos G' y G'' a una frecuencia de oscilación de 1 Hz y 1 % de deformación, dentro del rango de viscoelasticidad lineal determinado mediante barridos de frecuencia y deformación, respectivamente.

2.11. Análisis estadístico

Todas las mediciones fueron realizadas al menos por duplicado. Los datos experimentales fueron analizados mediante el programa Sigma Plot, versión 10.0 (Windows) el cual emplea el algoritmo Marquardt-Levenberg (Marquardt, 1963).

3. Resultados y Discusión

3.1. Extracción y análisis del HIPS

El HIPS se extrajo de la harina de cáscara de soja con un rendimiento del $(51 \pm 2) \%$ en base seca, con un porcentaje de proteínas de $(12,3 \pm 0,4) \%$, las cuales podrían encontrarse ligadas a los polisacáridos.

El espectro de FTIR del HIPS se muestra en la figura 1:

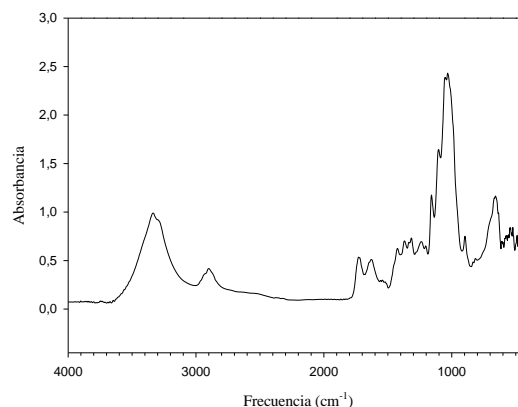


Figura 1: FTIR del HIPS

El patrón de FTIR de la muestra HIPS presenta características espectrales de su componente principal (celulosa), con las señales de infrarrojo correspondientes a los grupos funcionales típicos, tal

como se reporta extensamente en literatura: OH ($3400-3200\text{ cm}^{-1}$), C=O ($1765-1715\text{ cm}^{-1}$), C–O–C (1270 cm^{-1}) y C–O–H (1050 cm^{-1}), etc. (Sepe *et al.*, 2018; Yang *et al.*, 2007).

3.2. Efecto de la homogeneización a altas presiones en las propiedades del HIPS

La figura 2 muestra una fotografía de las dispersiones de HIPS sometidas a diferentes presiones de homogeneización (fibras tratadas y control):



Figura 2: Dispersiones de HIPS 1,5 %P/P a diferentes presiones de homogeneización: control, 300, 600, 800 y 1000 bar.

3.2.1. Efecto en la DTP

La figura 3 muestra la DTP (% volumen) de las fibras tratadas a diferentes presiones de homogeneización y luego de la aplicación de ultrasonido de baja energía para la ruptura de posibles agregados y la figura 4 la DTP para las fibras tratadas a 800 y 1000 bar a diferentes tiempos de sonicado.

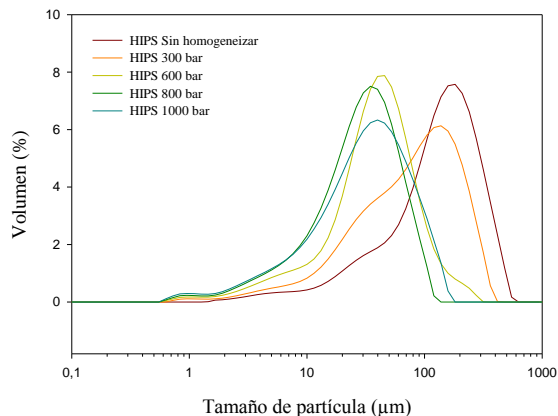


Figura 3: DTP (% Volumen) del HIPS a diferentes presiones de homogeneización y ultrasonido 40W, 2 min.

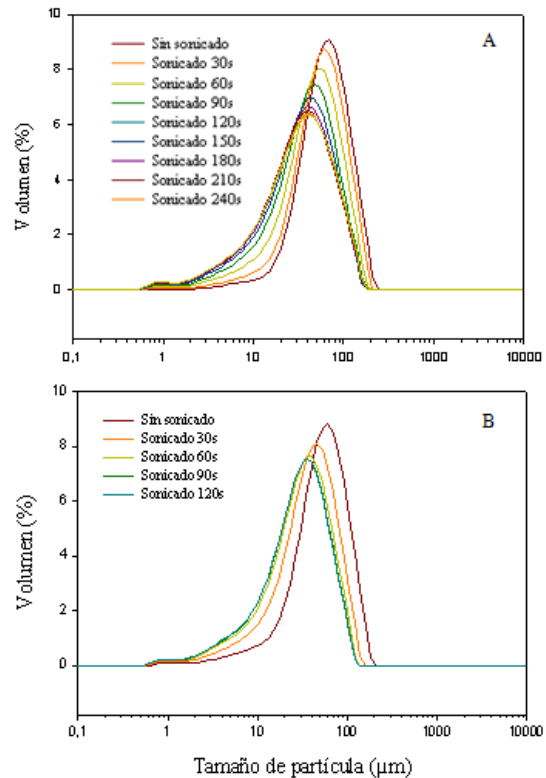


Figura 4: DTP (% Volumen) del HIPS a diferentes tiempos de sonicado con ultrasonido (40W). Homogeneización (A) 1000 bar (B) 800 bar. Sonicado a 40 W.

La dispersión control (sin homogeneizar) presentó una población mayoritaria centrada en el rango entre $100-150\text{ }\mu\text{m}$, aproximadamente, la cual se fue desplazando hacia menores tamaños de partícula a medida que aumentó la presión de homogeneización. A 1000 bar se obtuvo una distribución bimodal, con una población mayoritaria centrada entre $10-100\text{ }\mu\text{m}$ y una minoritaria centrada en $1\text{ }\mu\text{m}$ (figura 3). Sólo en las dispersiones homogeneizadas a 800 y 1000 bar se observó un corrimiento significativo de la DTP hacia menores tamaños de partícula al aplicar un tratamiento de sonicado de baja energía, producto de la agregación de las fibras (figura 4).

3.2.2. Efecto en la microestructura

Las micrografías SEM de las fibras tratadas y control se muestran en la figura 5.

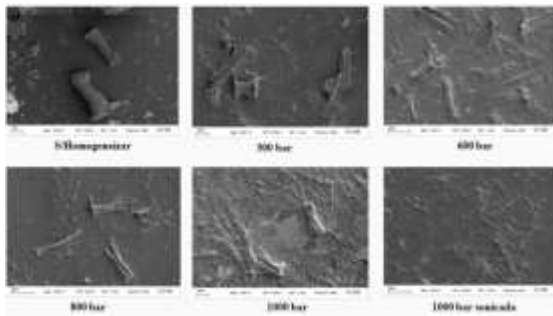


Figura 5: Micrografías electrónicas de barrido de las fibras tratadas a diferentes presiones de homogeneización y control (Amplificación: 2000 ×)

El efecto del tratamiento a altas presiones en el tamaño de las fibras previamente observado mediante la DTP también se evidencia en las micrografías SEM. Al comparar las micrografías se puede observar que el tratamiento a altas presiones produce ruptura de la estructura de las fibras, reduciendo notoriamente el tamaño de las mismas e incrementando su área interfacial. Estos efectos se incrementan a medida que aumenta la presión de homogeneización, observándose una matriz más extendida en las fibras tratadas a 1000 bar.

3.2.3. Efecto en la CRA

La CRA de las fibras tratadas y control se muestran en la tabla 1:

Tabla 1: CRA (g agua/g masa seca)

HIPS	Sin homog.	300 bar	600 bar	800 bar	1000 bar
CRA (g agua/g masa seca)	2,1 ± 0,4	9,5 ± 0,3	29 ± 2	55 ± 1	61 ± 1

El tamaño de partícula, área interfacial específica, porosidad y microestructura de las fibras son factores importantes que influyen en sus propiedades de hidratación (Cheng *et al.*, 2016). En nuestro estudio, la CRA de las fibras aumenta notoriamente al aumentar la presión de homogeneización. Esto es consistente con estudios revelados por otros autores que sugieren que al disminuir el tamaño de partícula y aumentar el área interfacial de las fibras se logra mayor exposición de grupos polares y sitios de unión al agua, facilitando la penetración y absorción de agua en la matriz formada por las fibras, lo que origina un aumento significativo en la CRA (Ahmed *et al.*, 2015; Cheng *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2012).

3.2.4. Efecto en las características reológicas

Los datos obtenidos a partir de los barridos de deformación de las fibras tratadas y control se muestran en la figura 6:

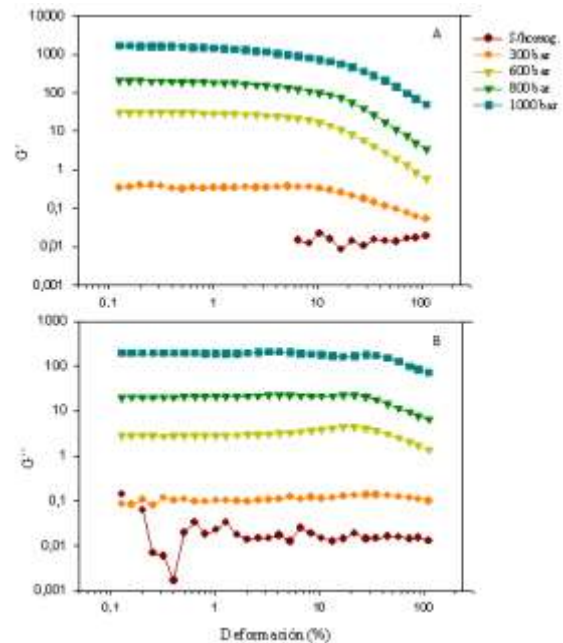


Figura 6: Módulos elástico (G') y viscoso (G'') vs deformación (%), para las fibras tratadas a diferentes presiones de homogeneización y control.

En las dispersiones de fibras tratadas a altas presiones se observa que el módulo de almacenamiento, G' (figura 6A) es mayor que el módulo de pérdida, G'' (figura 6B), lo que indica que estas dispersiones presentan características reológicas más elásticas que viscosas. Los valores de $\tan \delta$ calculados fueron: $0,85 \pm 0,03$; $0,26 \pm 0,06$; $0,10 \pm 0,01$; $0,12 \pm 0,01$; $0,13 \pm 0,01$ para las dispersiones de fibras control y tratadas a 300, 600, 800 y 1000 bar, respectivamente. Estos valores de $\tan \delta$ menores a uno sugieren la formación de estructuras interconectadas de fibras, formando una red gelificada (Ferrer *et al.*, 2016). Asimismo, los parámetros G' y G'' se incrementaron al aumentar la presión de homogeneización, como así también hay una tendencia hacia menores valores de $\tan \delta$ indicando mayor rigidez del gel. Este comportamiento se diferenció significativamente respecto de las fibras sin tratar (control) la cual arrojó un comportamiento viscoelástico significativamente reducido.

Los parámetros G' y G'' se mantuvieron constantes a bajas deformaciones y cayeron significativamente a altos % de deformación, principalmente en las dispersiones tratadas a altas presiones, posiblemente debido a la deformación y eventual ruptura de la estructura tipo gel formada por las fibras interconectadas.

Las curvas de flujo para las fibras tratadas y control se muestran en la figura 7:

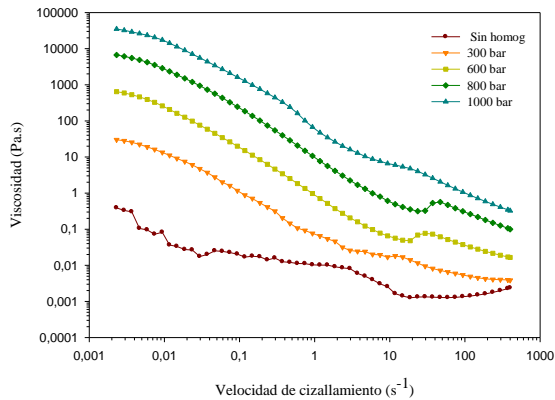


Figura 7: Curvas de flujo (viscosidad vs velocidad de cizallamiento) de las fibras tratadas a diferentes presiones de homogeneización y control.

En todos los casos se observó un comportamiento pseudoplástico, con una marcada disminución de la viscosidad al aumentar la velocidad de cizallamiento. Cabe destacar la presencia de un mínimo en las curvas de flujo (alrededor de 20 s^{-1}), más marcado en las dispersiones de fibras tratadas a mayores presiones de homogeneización, que podría indicar la ruptura de la red estructural tipo gel a altas velocidades de cizallamiento, producto de la destrucción de interacciones entre cadenas poliméricas. Tanto la viscosidad inicial de las dispersiones como en todo el rango de velocidad estudiado, los valores de viscosidad son mayores al aumentar la presión de homogeneización de las fibras.

Por otro lado, en ninguno de los casos los sistemas recuperaron su estado inicial luego de un período a cizalla constante y regreso a velocidad inicial, tal como se muestra en la figura 8 para la dispersión de fibras tratadas a 1000 bar.

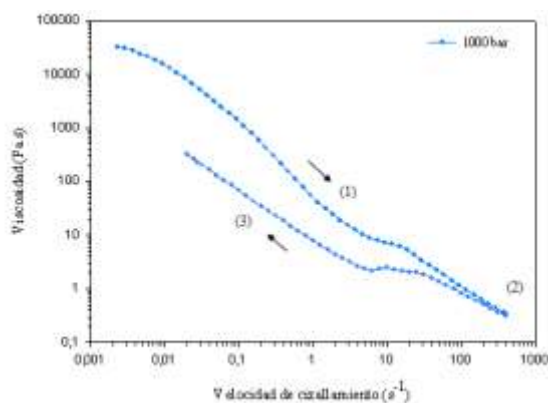


Figura 8: Curvas de flujo de las fibras tratadas a 1000 bar. (1) velocidad de cizallamiento ($0,001-400 \text{ s}^{-1}$), (2) 1 min a velocidad constante (400 s^{-1}) y (3) regreso a velocidad inicial ($400-0,001 \text{ s}^{-1}$).

3.3. Emulsiones O/W

Se seleccionaron las fibras tratadas a la máxima presión de homogeneización (1000 bar) y control (sin tratar) para evaluar su comportamiento emulsificante/estabilizante en emulsiones O/W ácidas y posterior análisis de las mejoras funcionales aportadas por el tratamiento de micronización a altas presiones.

La figura 9 muestra la DTP de las emulsiones formuladas con las fibras tratadas a 1000 bar y control, iniciales y luego de 28 días de almacenamiento.

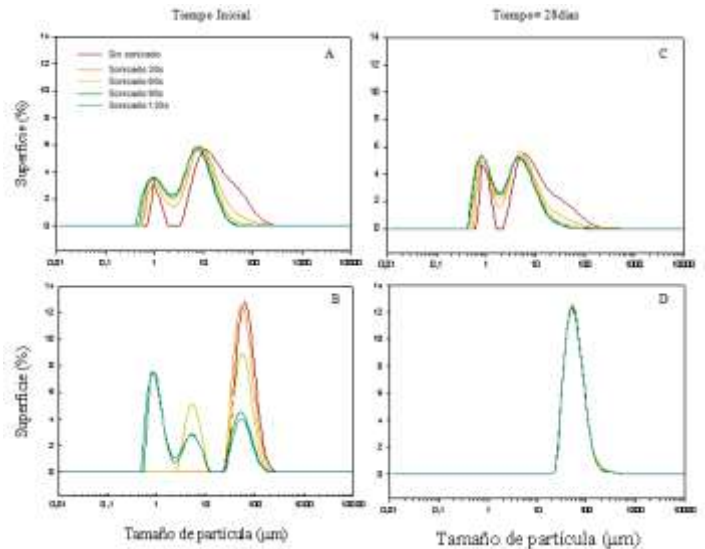


Figura 9: DTP (% superficie) de las emulsiones iniciales (A, fibras tratadas a 1000 bar; B, control) y luego de 28 días de almacenamiento (C, fibras tratadas a 1000 bar; D, control), a diferentes tiempos de sonicación a baja energía.

Las emulsiones formuladas con fibras tratadas arrojaron una distribución inicial bimodal, con dos poblaciones diferenciadas de gotas (figura 9A) y un marcado corrimiento de ambas poblaciones hacia menores tamaños de partícula a medida que se incrementa el tiempo de sonicación hasta alcanzar un valor constante a los 120 s, lo cual indica disgregación total de los flocúlos. En esta situación, las emulsiones presentaron una población menor de gotas centrada en $1 \mu\text{m}$, y otra mayor en $10 \mu\text{m}$, aproximadamente. Por su parte, las emulsiones formuladas con fibras sin tratar (figura 9B) presentaron una distribución más polidispersa y también se vieron modificadas al aplicar ultrasonido. Sin embargo, estas últimas presentaron una población de gotas adicional de mayor tamaño centrada en $50 \mu\text{m}$, aproximadamente.

A los 28 días de almacenamiento, en las emulsiones con fibras tratadas (figura 9C) se mantuvieron las poblaciones de gotas que se observaron inicialmente, sin registrarse cambios significativos en la DTP. En las emulsiones control (figura 9D), en cambio, se

observa un proceso de desestabilización por coalescencia que da lugar a la desaparición de las poblaciones de gotas de menor tamaño.

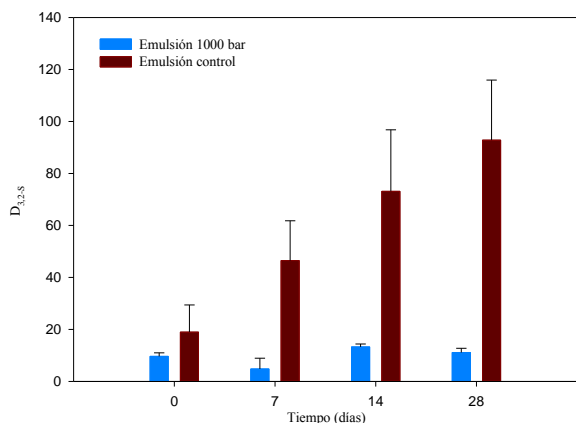


Figura 10: D_{3,2-S} de las emulsiones formuladas con fibras tratadas a 1000 bar y control en función del tiempo de almacenamiento

La figura 10 muestra el efecto del almacenamiento de las emulsiones en el diámetro promedio de gota. Tal como se discutió en el párrafo anterior, se analiza que el D_{3,2-S} en la emulsión formulada con fibras tratadas a 1000 bar es menor que en la emulsión control. Además se puede visualizar un aumento marcado en el D_{3,2-S} durante el almacenamiento debido a un proceso de desestabilización por coalescencia en la emulsión control, proceso que no se observa significativamente en la emulsión con fibras tratadas.

Mediante las micrografías ópticas de las emulsiones iniciales y almacenadas durante 28 días (figura 11) se verifica lo expuesto anteriormente, tanto en lo que respecta a las características iniciales de las emulsiones como en su estabilidad. Inicialmente, se evidencia la diferencia en el tamaño de gotas entre las distintas emulsiones, siendo significativamente de menor tamaño en las emulsiones con fibras tratadas a 1000 bar. En ambos casos se observa la presencia de flóculos, confirmando lo analizado de acuerdo al corrimiento en la DTP de las emulsiones al aplicar ultrasonido de baja energía (figura 9). En cuanto a la estabilidad, se verifica aumento en el tamaño final de las gotas en la emulsión control, acompañado de una menor presencia de flóculos, lo cual evidencia efectos de coalescencia en la misma.

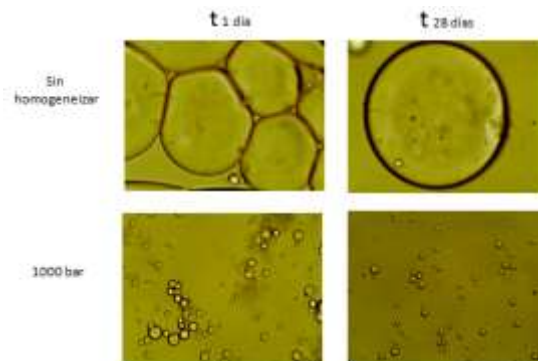


Figura 11: Micrografías ópticas de las emulsiones formuladas con fibras tratadas a 1000 bar y control, iniciales y luego de almacenadas.

(Amplificación: 40 ×)

Estos resultados evidencian una mejora sustancial en la funcionalidad de las fibras de cáscara de soja tratadas a altas presiones. Tal como se discutió previamente (secciones 3.2.1. y 3.2.2.) las fibras micronizadas poseen tamaños sustancialmente menores y mayor área superficial respecto de las fibras sin tratar, permitiendo un mejor posicionamiento de las fibras sobre la superficie de las gotas. Además, dado que los polisacáridos generalmente exhiben baja actividad interfacial debido a su carácter principalmente hidrofílico (Evans *et al.*, 2013), el tratamiento de micronización a altas presiones podría permitir una mayor exposición de grupos hidrofóbicos y/o de las proteínas presentes en el HIPS, lo cual mejoraría su capacidad de adsorberse a la interfase agua/aceite previniendo la agregación de las gotas y aumentando la estabilidad de la emulsión.

El ensayo visual de la cinética de cremado muestra una gran estabilidad para la emulsión con fibras tratadas a 1000 bar, sin embargo en la emulsión control se visualiza un efecto de cremado con aproximadamente 12 % de fase acuosa, a los 28 días de almacenamiento.

La figura 12 muestra el perfil de %BS analizado en la emulsión con fibras tratadas a 1000 bar, donde se verifica su estabilidad debido a la ausencia de procesos de cremado durante el tiempo de almacenamiento.

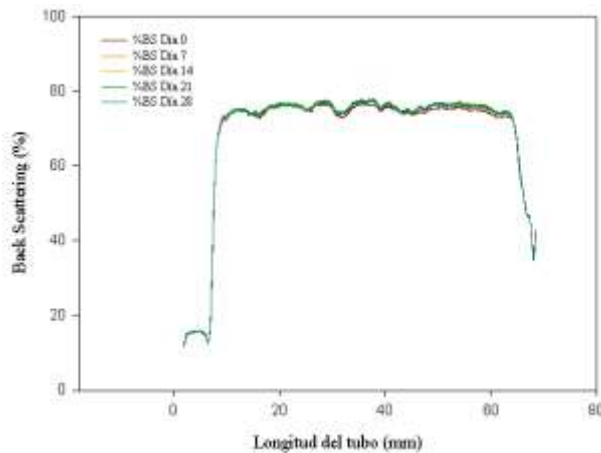


Figura 12: %BS en emulsión formulada con fibra tratada a 1000 bar

La Figura 13 muestra la dependencia de los módulos G' y G'' con el porcentaje de deformación al cual se sometieron las muestras (barridos de deformación), correspondiente a las emulsiones iniciales formuladas con fibras tratadas y control:

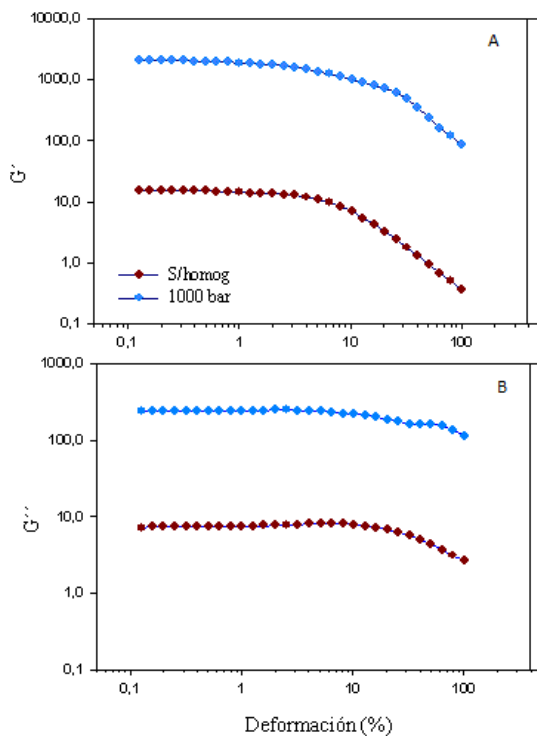


Figura 13: Módulos elástico (G') y viscoso (G'') para las emulsiones iniciales formuladas con fibras tratadas a 1000 bar y control.

Se observaron parámetros viscoelásticos constantes a bajos valores de deformación, con una caída abrupta de los mismos a altas deformaciones, principalmente en G' . Teniendo en cuenta que se trata de emulsiones floculadas, esto podría deberse a

que a bajas deformaciones las fuerzas hidrodinámicas no son lo suficientemente intensas como para romper las interacciones que mantienen las gotas agregadas en los floculos. Sin embargo, estas fuerzas se vuelven significativas a altas deformaciones, provocando la deformación y eventualmente la ruptura de los floculos y como consecuencia la disminución en los parámetros reológicos registrados (McClements, 1999).

En ambas emulsiones el módulo elástico resultó mayor que el módulo viscoso ($G' > G''$) resultando en valores de $\tan \delta$ menores a 1 ($\tan \delta$ a 1% de deformación 0,13 y 0,14 para la emulsión con fibras tratadas y control, respectivamente). Esto indica que los sistemas tienen características más elásticas que viscosas. Esto está en concordancia con las características de la fase acuosa anteriormente observadas (figura 6), donde se sugirió la interconexión de fibras formando una estructura de red gelificada, más aún en la emulsión con fibras tratadas. Esto también confiere cierta viscosidad a la emulsión y retrasa la formación de crema (Aken *et al.*, 2003), lo que se corresponde con la estabilidad de esta emulsión al cremado (figura 12).

Cabe destacar que la emulsión con fibras tratadas arrojó mayores valores de G' y G'' en comparación con la control, y sus características reológicas se mantuvieron constantes durante el almacenamiento (28 días), mientras que las emulsiones control registraron caídas significativas de sus parámetros viscoelásticos (datos no mostrados).

4. Conclusiones

La muestra HIPS consiste en una fracción de fibras insolubles que se obtiene de la cáscara de soja luego de un fraccionamiento en medio ácido. La misma posee bajo contenido en proteínas y es rica en polisacáridos insolubles, principalmente celulosa. El tratamiento de micronización a altas presiones del HIPS modifica significativamente su tamaño de partícula y morfología, dando lugar a un incremento sustancial en su capacidad de retención de agua. Esto altera significativamente las características reológicas del HIPS, modificando su comportamiento viscoelástico al promover la interconexión de fibras formando una estructura tipo gel, y aumentando su viscosidad. Estos cambios en las propiedades fisicoquímicas del HIPS mejoran sus propiedades de emulsificación y aportan estabilidad a las emulsiones O/W frente a procesos de desestabilización (coalescencia y cremado), manteniendo las propiedades reológicas de las mismas.

Este estudio permite demostrar que es posible el uso de fibras de cáscara de soja en emulsiones O/W modelo en medio ácido, permitiendo obtener sistemas estables y mejoras en su textura final

mediante tratamientos de micronización de las fibras.

5. Referencias

- Ahmed, J.; Al-Jassar, S.; Thomas, L. (2015). *A comparison in rheological, thermal, and structural properties between Indian Basmati and Egyptian Giza rice flour dispersions as influenced by particle size*. Food Hydrocolloids 48, 72-83.
- Alemdar, A.; Sain, M. (2008). *Isolation and characterization of nanofibers from agricultural residues - Wheat straw and soy hulls*. Bioresource Technology 99, 1664-1671.
- Alemdar, A.; Sain, M. (2008). *Isolation and characterization of nanofibers from agricultural residues - Wheat straw and soy hulls*. Bioresource Technology 99, 1664-1671.
- Cabezas, D.M.; Pereira Ortiz, M.; Wagner, J.R.; Porfiri, M.C. (2017). *Effect of salt content and type on emulsifying properties of hull soy soluble polysaccharides at acidic pH*. Food Research International 97, 62-70.
- Dagorn-Scaviner, C.; Gue'guen, J.; Lefebvre, J. (1987). *Emulsifying properties of pea globulins as related to their adsorption behaviors*. J. Food Sci 52, 335-341.
- Elleuch, M.; Bedigian, D.; Roiseux, O.; Besbes, S.; Blecker, C.; Attia, H. (2011). *Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review*. Food Chemistry 124, 411-421.
- Evans, M.; Ratcliffe, I.; Williams, P.A. (2013). *Emulsion stabilisation using polysaccharide-protein complexes*. Current Opinion in Colloid & Interface Science 18, 272-282.
- Ferrera, A.; Salasa, C.; Rojas, O.J. (2016). *Physical, thermal, chemical and rheological characterization of cellulosic microfibrils and microparticles produced from soybean*. Industrial Crops and Products 84, 337-343.
- Gnanasambandam, R.; Proctor, A. (1999). *Preparation of soy hull pectin*. Food Chemistry 65, 461-467.
- Kalapathy, U.; Proctor, A. (2001). *Effect of acid extraction and alcohol precipitation conditions on the yield and purity of soy hull pectin*. Food Chemistry 73, 393-396.
- Ketenoglu, O.; Mert, B.; Tekin, A. (2014). *Effects of microfluidized dietary fibers on stability properties of emulsions*. Journal of Texture Studies 45, 295-306.
- Liu, C.; Liang, R.; Dai, T.; Ye, J.; Zeng, Z.; Luo, S.; Chen, J. (2016). *Effect of dynamic high pressure microfluidization modified insoluble dietary fiber on gelatinization and rheology of rice starch*. Food Hydrocolloids 57, 55-61.
- Marquardt D.W. (1963). *An algorithm for least-squares estimation of nonlinear parameters*. Journal of the Society for Industrial and Applied Mathematics 11, 431-441.
- McClements, D.J. (1999). *Food Emulsions: Principles, Practice and Techniques*, CRC Press, New York.
- Monsoor, M.A. (2005). *Effect of drying methods on the functional properties of soy hull pectin*. Carbohydrate Polymers 61, 362-367.
- Mullin, W.J.; Xu, W. (2000). *A study of the intervarietal differences of cotyledon and seed coat carbohydrates in soybeans*. Food Research International 33, 883-891.
- Nkonge, C.; Balance, G. (1982). *A Sensitive Colorimetric Procedure for Nitrogen Determination in Micro-Kjeldahl Digests*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 30, 416-420.
- Olguin, M.C.; Posadas, M.D.; Revelant, G.C.; Labourdette, V.; Marinozzi, D.; Elías, H.D.; Gayol, M.C.; Zingale, M.I. (2009). *La cascarilla de la soja: potencial componente de alimentos funcionales*. Revista chilena de nutrición 36 (3), 239-245.
- Porfiri, M.C.; Cabezas, D.M.; Wagner, J.R. (2016). *Comparative study of emulsifying properties in acidic condition of soluble polysaccharides fractions obtained from soy hull and defatted soy flour*. J. Food Sci Technol 53 (2), 956-967.
- Ridner, E. (2006). *Soja, propiedades nutricionales y su impacto en la salud*. 1a ed. Buenos Aires, Grupo Q S.A.:Sociedad Argentina de Nutrición. Industrial Crops and Products 14, 73-83.
- Rodríguez, R.; Jiménez, A.; Fernández-Bolaños, J. R.; Guillén, A.; Heredia A. (2006). *Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients*. Trends in Food Science & Technology 17, 3-15.
- Sepea, R.; Bollinob, F.; Boccarussoa, L.; Caputob, F. (2018) *Influence of chemical treatments on mechanical properties of hemp fiber reinforced composites*. Composites Part B 133, 210-217.
- Sessa, D.J.; Wolf, W.J. (2001). *Bowman-Birk inhibitors in soybean seed coats*. Industrial Crops and Products 14, 73-83.
- Van Akena, G.A.; Blijdensteina, T.; Hotruma, N.E. (2003). *Colloidal destabilisation mechanisms in protein-stabilised emulsions*. Current Opinion in Colloid and Interface Science 8, 371-379.
- Wang, B.; Sain, M. (2007). *Isolation of nanofibers from soybean source and their reinforcing capability on synthetic polymers*. Composites Science and Technology 67, 2521-2527.

Wang, T.; Sun, X.; Zhou, Z.; Chen, G. (2012). *Effects of microfluidization process on physicochemical properties of wheat bran*. Food Research International 48(2), 742-747.

Yang, H.; Yan, R.; Chen, H.; Lee, D.H.; Zheng, C. (2007). *Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis* 86, 1781-1788

41TCA. Efecto de la sustitución de harina de arroz nativa por harina modificada sobre la calidad de pasta sin gluten

Effect of native rice flour substitution by modified flour on gluten free pasta quality

Cecilia Etchemendigaray¹, Luciana González¹, Maria Ana Loubes¹.

1. Universidad de Buenos Aires, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Instituto de Tecnología de Alimentos y Procesos Químicos (ITAPROQ, UBA-CONICET), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Buenos Aires, Argentina. maeelar@yahoo.com.ar.

Resumen

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de la sustitución de harina de arroz nativa (N) por harina de arroz modificada (M), sobre las propiedades culinarias (absorción de agua, AA; residuo de cocción, RC) y texturales (fuerza y extensibilidad) de las pastas laminadas, elaboradas a base de harina de arroz y goma xántica. N se obtuvo en un molino de cuchillas y posterior selección de la fracción fina por tamizado, y M en un molino planetario de bolas, determinándose el tamaño de partícula de ambas por difracción láser. Se prepararon cinco formulaciones variando de 0-100% la proporción de cada tipo de harina. M presentó menor tamaño de partícula y una distribución más homogénea en comparación con N. La AA y la fuerza se incrementaron con el aumento de M en la formulación alcanzando valores máximos de 41% y 77% respectivamente. RC y la extensibilidad disminuyeron con la reducción de N; los valores máximos fueron 38% y 22%, respectivamente. Se encontraron correlaciones significativas ($p < 0,05$) entre los atributos de la pasta: RC-Extensibilidad ($r=0,93$) y Fuerza-Extensibilidad ($r=0,92$). Estos resultados permiten concluir que la sustitución de la harina de arroz nativa por modificada, superior o igual al 50%, mejora considerablemente la calidad de las pastas frescas laminadas sin gluten.

Palabras clave: Fideos, textura, propiedades culinarias, enfermedad celíaca.

Abstract

The objective of this work was to evaluate the effect of substitution of native rice flour (N) with modified rice flour (M) on culinary (water absorption, AA, cooking loss, RC) and textural (strength and extensibility) properties of laminated pasta elaborated with rice flour and xanthan gum. N was obtained in a knife mill, sifting out and choosing afterwards the refined flour fraction, and M by planetary ball milling. Particle size distribution of both flours was determined by laser diffraction. Five formulations were prepared varying from 0-100% the proportion of each flour category. M presented lower particle size and a more homogeneous distribution, compared to N. AA and strength maximum values were 41% and 77%, these properties increased with the gain of M in formulation. RC and extensibility decreased with N reduction; the maximum values were 38% and 22% respectively. Significant correlations were found ($p < 0.05$) between pasta attributes: RC-Extensibility ($r=0.93$) and Strength-Extensibility ($r=0.92$). These results demonstrate that the substitution of native rice flour with modified rice flour, greater than or equal to 50%, improves considerably the quality of gluten free laminated pasta.

Keywords: Noodles, texture, culinary properties, celiac disease.

1. Introducción

La harina de arroz es uno de los cereales más adecuados para preparar alimentos libres de gluten, por sus características organolépticas y su hipoalergenicidad (Molina-Rosell, 2013; Osella, de la Torre y Sánchez, 2014). Recientemente se han publicado estudios científicos dirigidos a evaluar la

optimización de las formulaciones, el uso de ingredientes y las técnicas que permitan desarrollar alimentos libres de gluten con mejor calidad tecnológica y sensorial (Palavecino *et al.*, 2017; Larrosa *et al.*, 2013). Sin embargo, se han informado pocas investigaciones que contemplen el desarrollo de pastas frescas a base de arroz con las características deseadas por los consumidores

occidentales, que son diferentes a la de los consumidores orientales. Las pastas elaboradas con harina de arroz (o almidón de arroz) constituyen una comida popular en Asia, aunque tradicionalmente el proceso de producción es diferente: una suspensión de harina obtenida por molienda húmeda se somete al calentamiento con vapor, transformándose luego del enfriamiento en una lámina gelatinizada, similar a la elaboración de papel de arroz comestible (Yeh, 2004; Cham y Suwannaporn, 2010). En occidente, este tipo de pastas de arroz no goza de la misma aceptación y los consumidores prefieren fideos que emulen a los obtenidos por laminación o por extrusión de harina de trigo (Molina-Rosell, 2013).

La sustitución de la harina de trigo por harina de arroz, en el proceso de elaboración de pastas, hace necesario crear una matriz lo suficientemente uniforme y cohesiva, capaz de soportar el proceso de cocción y que otorgue atributos de calidad a la pasta (buena absorción de agua, baja pérdida de sólidos durante la cocción, reducida pegajosidad, extensibilidad, entre otros) (Mariotti *et al.*, 2011; Huang, Knight y Goad, 2001). Por ello, para conferir propiedades viscoelásticas a la masa, en ausencia de gluten, se han utilizado emulsionantes, gomas e hidrocoloides (Heo *et al.*, 2013; Susanna y Prabhasankar, 2013; Sozer, 2009, Loubes *et al.*, 2016), transglutaminasa (Kim *et al.*, 2014) y varios tratamientos tales como la gelatinización de las materias primas (Sozer, 2009). También se ha informado que el tratamiento hidrotérmico de las harinas incrementa la capacidad ligante de las partículas, mejorando la calidad de los fideos (Lorlowhakarn y Naivikul, 2006; Hormdok y Noomhorm, 2007; Cham y Suwannaporn, 2010), en este sentido las modificaciones termomecánicas provocadas en la molienda de alto impacto, podrían servir al mismo propósito.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la sustitución, parcial o total, de la harina de arroz nativa por harina de arroz modificada, sobre las propiedades culinarias y texturales de las pastas frescas laminadas libres de gluten.

2. Materiales y métodos

2.1. Preparación de las harinas de arroz

Se prepararon dos harinas a partir de arroz blanco comercial de grano largo fino (Molinos Río de la Plata S.A., Buenos Aires, Argentina). La composición del mismo expresada en base seca fue: humedad 11,5 g/100 g, almidón 79,5 g/100 g, materia grasa 0,5 g/100 g, proteína 7,8 g/100 g (N x 5,75), fibra 0,3 g/ 100 g y ceniza 0,4 g/100 g, determinada de acuerdo con los métodos estándar (AOAC, 2000) y un contenido de amilosa de 23,7

g/100 g b.s. de almidón (Morrison y Laignelet, 1983).

La harina nativa (N) se preparó en un molino de cuchillas (Decalab Fbr, Buenos Aires, Argentina). Se procesaron 100 g de arroz durante 30 s que luego se tamizaron en un equipo Zonytest EJR200 (Rey & Ronzoni, Buenos Aires, Argentina) empleando un tamiz ASTM N°45 y descartando la fracción superior a 350 µm.

La harina modificada (M) se obtuvo en un molino planetario de bolas de alto impacto (PM100, Retsch GmbH, Alemania). Se fijó la velocidad de rotación en 550 rpm y se estableció un tiempo de molienda de 20 min, de acuerdo con el protocolo de molienda de Loubes y Tolaba (2014).

2.2. Distribución de tamaño de partícula de las harinas

Se determinó por dispersión estática de luz, usando un equipo Mastersizer 2000 (Malvern Instruments, Worcestershire, Reino Unido) con una unidad de dispersión Hydro 2000MU. La velocidad de la hélice fue de 1800 rpm, como agente dispersante se usó agua bidestilada (índice de refracción 1,53 y absorción 0,001). A partir de cinco lecturas, se obtuvo la distribución de tamaño de partícula en volumen y los valores del D10, D50 y D90, que representan los diámetros de partícula de la distribución acumulativa al 10 %, 50 % (mediana) y 90 %, respectivamente. La dispersión de la población se estimó mediante el valor de IDv (índice de dispersión) calculado según:

$$IDv = (D90 - D10) / D50 \quad (1)$$

2.3. Elaboración de las pastas

Se prepararon cinco formulaciones para la elaboración de las pastas laminadas (Tabla 1), para lo cual se utilizaron distintas proporciones de harina nativa y modificada, manteniendo constante la cantidad de goma xántica (Doña Clara, Buenos Aires, Argentina).

Tabla 1. Composición porcentual de las formulaciones para la elaboración de fideos frescos.

M ¹ : N ²	100 : 0	75 : 25	50 : 50	25 : 75	0 : 100
M ¹ (g)	86,75	65,06	43,37	21,69	0,00
N ² (g)	0,00	21,69	43,37	65,06	86,75
Goma (g)	3,61	3,61	3,61	3,61	3,61
M ¹ Gel ³ (g)	9,64	7,23	4,82	2,41	0,00
N ² Gel ³ (g)	0,00	2,41	4,82	7,23	9,64
Total (g)	100	100	100	100	100
g agua/g total	0,72	0,58	0,69	0,74	0,57

¹Harina de arroz modificada. ²Harina de arroz nativa.
³Gelatinizada.

Una fracción de la mezcla de harinas fue gelatinizada con agua destilada en un baño de agua termostatazado con agitación, a 90 °C durante 30 min. Sobre los ingredientes secos se incorporó la fracción gelatinizada y se amasó manualmente durante 5 min. Se envolvió la masa con papel film y se dejó descansar 30 min a 25 °C. Luego del reposo, se utilizó una fabricadora de pastas (Schule, China) para laminar (nivel N° 6, espesor 1,65 mm) y cortar las masas en tiras de 6 mm de ancho. Finalmente, se almacenaron en recipientes herméticos a 4 °C hasta su uso.



Figura 1. Soportes de acrílico y punta de medición para la realización del ensayo de extensibilidad.

2.4. Propiedades de cocción

El residuo de cocción (RC) de la pasta laminada se evaluó según el método 16-50 de la AACC (1995). Sobre cuatro gramos de muestra colocados en 150 ml de agua destilada a ebullición, hasta su tiempo óptimo de cocción. El agua de cocción se evaporó en estufa a 100 °C, hasta masa constante y los sólidos fueron expresados como % p/p de muestra, según la siguiente expresión:

$$RC (\%) = \frac{\text{masa de sólidos secos}}{\text{masa de muestra cruda}} \times 100 \quad (2)$$

La absorción de agua (AA) se determinó de acuerdo con Tudoricá, Kuri y Brennan (2002). Cinco gramos de muestra se cocinaron hasta su tiempo óptimo de cocción, en 200 ml de agua destilada a ebullición, se enjuagaron con 50 ml de agua destilada, se escurrieron durante 20 s y se colocaron en un envase de cierre hermético hasta alcanzar la temperatura ambiente. A partir de la masa de la pasta escurrida, se calculó la absorción de agua como:

$$AA (\%) = \frac{(\text{masa cocida} - \text{masa cruda})}{\text{masa cruda}} \times 100 \quad (3)$$

2.5. Propiedades mecánicas

Se utilizó una máquina universal de textura (Instron 3345, EE. UU.) para medir la fuerza en ruptura (expresada en N) y la deformación alcanzada (expresada en mm) mediante un ensayo de extensibilidad de las diferentes formulaciones. El texturómetro fue equipado con una celda de carga de 50 N y una punta de medición esférica de 18 mm de diámetro, la que se desplazó a una velocidad de 0,1 mm/s. Las piezas se cortaron en forma circular de 6 cm de diámetro y 2,5 mm de espesor. Para el ensayo se colocó la muestra cocida (8 min en agua a 100 °C) entre dos placas acrílicas, exponiendo una sección circular de 3,5 cm de diámetro (Figura 1). Se registró la fuerza en función de la extensión. Los resultados que se presentan corresponden al promedio de al menos nueve ensayos por formulación.

2.6. Análisis estadístico

Las diferencias significativas entre los parámetros de las muestras fueron determinadas por análisis de varianza simple (ANOVA), y comparación de las medias por el test de mínima diferencia significativa de Fisher (LSD), con un nivel de confianza del 95 %. Además, se aplicó el análisis de correlación de Pearson, para establecer posibles relaciones (lineales) entre las diferentes propiedades evaluadas. En todos los casos se implementó el programa estadístico Statgraphics Centurion versión XVI (Statistical graphics Corporation, EE. UU.).

3. Resultados y Discusión

3.1. Distribución de tamaño de partícula

La distribución de tamaño de partícula en volumen de la harina de arroz nativa fue monomodal, con un máximo en 240 μm y un IDv de $2,54 \pm 0,05$ (Figura 2).

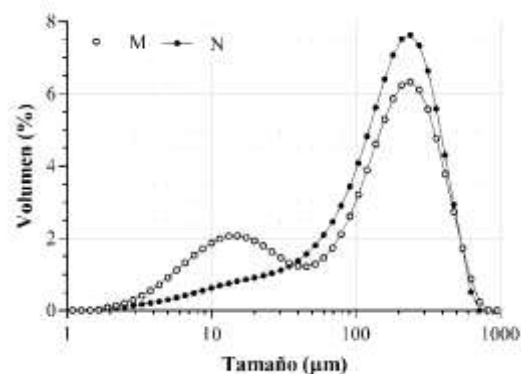


Figura 2. Distribución de tamaño de partícula en volumen de las harinas modificada (M) y nativa (N).

En cambio, la harina modificada por molienda de alta energía presentó una distribución bimodal con un pico en 240 μm , al igual que la harina nativa, y otro característico en 15 μm , correspondiente a la fracción de menor población. El IDv hallado ($2,04 \pm 0,02$) fue menor en comparación con el de la harina nativa, lo que indica una distribución más homogénea. La molienda de alto impacto o energía produce, mediante transformaciones termomecánicas, cambios estructurales en el almidón, siendo la drástica reducción de la granulometría en poco tiempo, uno de los factores que caracterizan este método de modificación física del almidón (Loubes, 2015).

3.2. Propiedades de cocción

Se determinaron dos índices, la capacidad de absorción de agua de la pasta (AA) y el residuo de cocción (RC), que es medida de la pérdida de sólidos durante la cocción.

Las propiedades de cocción, esquematizadas en la Figura 3, manifestaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en función de la formulación. La AA de los fideos varió entre 56% (0:100) y 79% (100:0) y el RC entre 6,31% (0:100) y 10,18% (100:0).

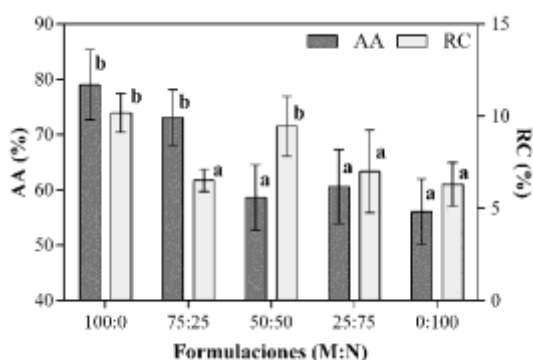


Figura 3. Absorción de agua (AA) y residuo de cocción (RC) en función del porcentaje de harina modificada (M) y de harina nativa (N) en las pastas.

La absorción de agua aumentó con el incremento de la harina modificada en detrimento de la nativa, cuando la sustitución fue superior al 50%. Sin embargo, ocasionó a su vez un aumento del residuo de cocción cuando la sustitución fue del 100% o del 50%, una proporción 75:25 (M:N) mostró óptimos resultados de ambas propiedades culinarias.

Es sabido que las harinas y los almidones modificados en un molino planetario presentan mayor poder de hinchamiento e índice de solubilidad en agua, debido al contenido de almidón dañado, facilitando la hidratación en comparación con los granulos intactos. Por otra parte, la menor

granulometría de estas harinas provoca una mayor área superficial relativa que posibilita la lixiviación de las moléculas durante el calentamiento (Loubes y Tolaba, 2014; Loubes, 2015).

3.3. Propiedades mecánicas

En la Figura 4 se muestra una selección de las curvas de fuerza versus extensión, correspondientes a las pruebas de extensibilidad a la que fueron sometidas las pastas laminadas cocidas, elaboradas a partir de las diferentes formulaciones.

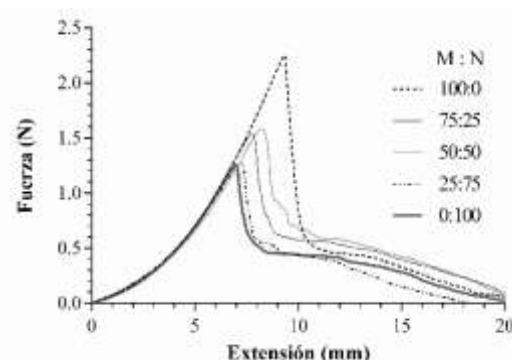


Figura 4. Curvas de fuerza vs. extensión en función del porcentaje de harina modificada (M) y de harina nativa (N) en las pastas.

La Tabla 2 presenta los valores promedio de los parámetros característicos en el punto de rotura. Los mayores niveles de fuerza y extensión se obtuvieron con la preparación en la que se sustituyó totalmente la harina nativa por harina modificada, siendo 77% y 29% respectivamente, superior a los valores encontrados en la formulación sin harina modificada. Se visualiza que la fuerza aumenta conforme se incrementa el porcentaje de sustitución. Asimismo, se encontró la mayor deformación cuando la sustitución de la harina nativa fue del 50% o del 100%. La harina de arroz modificada, la cual presenta un nivel moderado de daño térmico (Loubes *et al.*, 2016) le otorga a las pastas frescas mayor elasticidad.

Tabla 2. Propiedades mecánicas de los fideos frescos cocidos en función de la formulación.

M ¹ : N ²	Fuerza (N)	Extensión (mm)
100:0	2,225 ± 0,531 ^d	9,352 ± 1,076 ^c
75:25	1,633 ± 0,311 ^c	7,390 ± 0,900 ^a
50:50	1,580 ± 0,236 ^{bc}	8,227 ± 0,782 ^b
25:75	1,116 ± 0,252 ^a	7,061 ± 0,633 ^a
0:100	1,265 ± 0,173 ^{ab}	7,275 ± 0,637 ^a

¹Harina de arroz modificada. ²Harina de arroz nativa.

Media \pm DS. Valores en la misma columna con la misma letra no difieren significativamente ($p < 0,05$).

Las correlaciones significativas ($p < 0,05$) y positivas halladas entre la fuerza y la extensibilidad ($r = 0,924$) y entre el residuo de cocción y la extensibilidad ($r = 0,9263$), muestran que los parámetros mecánicos de los fideos libres de gluten, elaborados a base de harina de arroz, están fuertemente ligados entre sí y al mismo tiempo están vinculados con las propiedades culinarias.

4. Conclusiones

Estos resultados permiten concluir que la sustitución superior o igual al 50%, de la harina de arroz nativa por harina de arroz modificada, en pastas frescas laminadas sin gluten, mejora las propiedades texturales de las mismas, aumentando la elasticidad de la masa cocida entre 13% y 29%. A su vez, en estas mismas condiciones las propiedades culinarias, intrínsecamente relacionadas con las propiedades mecánicas, exhiben una mayor absorción de agua, aunque en detrimento del residuo de cocción.

5. Referencias

- AACC, (1995). *Approved methods of the AACC (9^o Ed.)*. American Association of Cereal Chemists, St Paul, Minnesota, USA.
- AOAC, (2000). *Official Methods of Analysis*, 17^a ed. Association of Analytical Communities, Gaithersburg, Maryland, USA.
- Cham, S.; Suwannaporn, P. (2010). Effect of hydrothermal treatment of rice flour noodles quality, *Journal of Cereal Science* 51, 284-291.
- Huang, J. C.; Knight, S.; Goad, C. (2001). *Model prediction for sensory attributes of nongluten pasta*, *Journal of Food Quality* 24 (6), 495-511.
- Heo, S.; Lee, S.M.; Shim, J.H.; Yoo, S.H.; Lee, S. (2013). *Effect of dry- and wet-milled rice flours on the quality attributes of gluten-free dough and noodles*, *Journal of Food Engineering* 116, 213-217.
- Hormdok, R.; Noomhorm, A. (2007). *Hydrothermal treatments of rice starch for improvement of rice noodle quality*, *LWT - Food Science and Technology* 40, 1723-1731.
- Kim, Y.; Kee, J.I.; Lee, S.; Yoo, S.H. (2014). *Quality improve of rice noodle restructured with rice protein isolate and transglutaminase*, *Food Chemistry* 145, 409-416.
- Larrosa, V.; Lorenzo, G.; Zaritzky, N.; Califano, A. (2013). *Optimization of rheological properties of gluten-free pasta dough using mixture design*, *Journal of Cereal Science* 57, 520-526.
- Lorlowhakarn, K.; Naivikul, O. (2006). *Modification of rice flour by heat moisture treatment (HMT) to produce rice noodles*, *Kasetsart Journal (Natural Science)*, 40 (Suppl.), 135-143.
- Loubes, M.A. (2015). *Molienda seca y húmeda de arroz en molino planetario. Cinética de la molienda, efecto de las condiciones de molienda en las propiedades funcionales de la harina y del almidón y diseño de mezclas para pastas sin gluten*, Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.
- Loubes M.A.; Flores, S.K.; Tolaba, M.P. (2016). *Effect of formulation on rice noodle quality: Selection of functional ingredients and optimization by mixture design*, *LWT - Food Science and Technology*, 69, 280-286.
- Loubes, M.A.; Tolaba, M.P. (2014). *Thermo-mechanical rice flour modification by planetary ball milling*, *LWT - Food Science and Technology* 57, 320-328.
- Mariotti, M.; Iametti, S.; Cappa, C.; Rasmussen, P.; Lucisano, M. (2011). *Characterisation of gluten-free pasta through conventional and innovative methods: evaluation of the uncooked products*, *Journal of Cereal Science* 53 (3), 319-327.
- Molina-Rosell, C. (2013). *Alimentos sin gluten derivados de cereales* In *Enfermedad celíaca y sensibilidad al gluten no celíaca* by L. Rodrigo and A.S. Peña, pp. 447-461. Omnia Publisher. España.
- Morrison, W.R.; Laignelet, B. (1983). *An improved colorimetric procedure for determining apparent and total amylose in cereal and other starches*, *Journal of Cereal Science* 1, 9-20.
- Osella, C.; de la Torre, M.; Sánchez, H. (2014). *Safe foods for celiac people*, *Food and Nutrition Sciences* 5 (9), 787-800.
- Palavecino, P.M.; Bustos, M.C.; Heinzmann Alabí, M.B.; Nicolazzi, M.S.; Penci, M.C.; Ribotta, P.D. (2017). *Effect of Ingredients on the Quality of Gluten-Free Sorghum Pasta*, *Journal of Food Science* 0, 1-9.
- Sozer, N. (2009). *Rheological properties of rice pasta dough supplemented with proteins and gums*, *Food Hydrocolloids* 23, 849-855.
- Susanna, S; Prabhasankar, P. (2013). *A study on development of gluten free pasta and its biochemical and immunological validation*, *LWT- Food Science and Technology* 50, 613-621.
- Tudoricâ, C.M.; Kuri, V.; Brennan, C.S. (2002). *Nutritional and physicochemical characteristics of dietary fiber enriched pasta*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 347-356.

Yeh, A.I. (2004). *Preparation and applications of rice flour* In Rice: chemistry and Technology by E.T. Champagne, pp. 495-539. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, Minnesota. USA.

42TCA. Caracterización fisicoquímica del extracto de topinambur (*Helianthus tuberosus* L).

Physicochemical characterization of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L) extract.

María Margarita Montenegro¹, Liliana Myriam Grzona^{1,2}, Roberto Carrizo Flores^{1,2}, Marta Ponzi^{1,2}, Nora Comelli^{1,2}.

1. Facultad de Ingeniería y Ciencias Agropecuarias (UNSL). Ruta 55 extremo norte. 2. INTEQUI-
(CONICET-UNSL). Ruta 55 extremo norte. maritamontenegro@gmail.com

Resumen

El extracto de topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) es la solución obtenida mediante extracción sólido-líquido de los fructanos almacenados en los tubérculos de topinambur. La inulina es el carbohidrato de reserva en este tubérculo, el cual es un ingrediente atractivo en la industria alimentaria, por ello es conveniente conocer las características físicas y químicas de este extracto. En el presente estudio se determinaron el contenido de sólidos solubles totales (SST) y de residuo seco, pH, proteínas, cenizas y composición química. El extracto de topinambur, en promedio tuvo SST equivalentes a 7 °Brix, 48,84 % de residuo seco y pH 6,48. Los estudios de cromatografía en fase líquida (HPLC) y análisis de FTIR, mostraron que el extracto de topinambur contiene principalmente inulina y fructooligosacáridos. Los estudios de espectroscopía UV-Vis permitieron reconocer la presencia de taninos.

Palabras clave: topinambur, extracto, inulina

Abstract

The extract of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) is the solution produced by extraction liquid-solid of fructans stored in the tubers of jerusalem artichoke. Inulin is the reserve carbohydrate present in this tuber and has become an attractive ingredient in the food industry; therefore, it is important to know the physical and chemical characteristics of this extract. In this study we determined the content of total soluble solids (TSS) and of dry residue, pH, protein, ash and chemical composition. The extract of Jerusalem artichoke, on average, had TSS equivalent to 7 °Brix, 48,84 % dry residue and pH 6,48. High-performance liquid chromatography (HPLC) and FTIR studies showed that the extract of Jerusalem artichoke contains mainly inulin and fructooligosaccharides. Spectroscopy UV-vis results allowed to recognize the presence of tannins

Keywords: Jerusalem artichoke, extract, inulin

1. Introducción

El topinambur (*Helianthus tuberosus L.*) es una especie que pertenece a la familia de las Asteráceas, no está difundida como hortaliza en nuestro país, aunque se utiliza en la alimentación humana en otros lugares del mundo. Actualmente se consume como hortaliza en algunos mercados. Crece bien en los trópicos semiáridos, resiste las bajas temperaturas y no requiere de suelos fértiles para su crecimiento. Los tubérculos de topinambur contienen inulina, un polímero oligosacárido no degradable que contiene 30-35 unidades de fructosa dispuestas linealmente en enlaces β (1-2) (Okada *et al.*, 2017). El color del tubérculo es blanco, rojo púrpura o marrón claro. La forma puede ser oblonga, ovalada o fusiforme. Los tubérculos de algunos cultivares poseen forma irregular con prominencias, el peso promedio varía de 10 a 100 g dependiendo del cultivar y la región de crecimiento. El contenido de inulina en los tubérculos depende de varios factores, registrándose valores promedios de 9,9 a 10,5 g inulina/100 g producto fresco (Bach *et al.*, 2012). La inulina posee propiedades atractivas desde el punto de vista tecnológico, puede formar geles en agua, provee estabilidad en espumas y en emulsiones por lo que puede utilizarse como estabilizante en formulaciones de alimentos (Kalyani *et al.*, 2010). Por otra parte, la inulina es una fibra dietaria, de acuerdo al grado de polimerización, presenta atributos funcionales distintivos que la hace apta para su utilización como ingrediente y/o coadyuvante de tecnología en la industria alimentaria. También puede utilizarse como fuente de fibra, sustituto de grasas, azúcares u otros macronutrientes, entre otras aplicaciones. Las principales fuentes de inulina en la industria alimentaria son la achicoria y el topinambur. Se han utilizado distintos métodos de obtención de inulina a partir de topinambur (Li *et al.*, 2015; Lingyun *et al.*, 2007; Rubel *et al.*, 2018), la mayoría de ellos consiste en un proceso de lixiviación con agua a diferentes temperaturas, relaciones solvente/sólido y tiempos de extracción. En la bibliografía abierta no se registran estudios de la aplicación del extracto obtenido en la elaboración de alimentos. Por lo tanto, es necesario conocer sus propiedades físicas y químicas y el contenido de inulina, lo que permitirá evaluar su calidad e impacto en el desarrollo de nuevos productos alimenticios. El principal objetivo de este trabajo fue la caracterización fisicoquímica del extracto obtenido mediante el proceso de lixiviación de topinambur con agua.

2. Materiales y métodos

Preparación del extracto de topinambur

Los tubérculos de topinambur, variedad blanca, utilizados en este estudio, fueron sembrados y cosechados en parcelas experimentales ubicadas en

la Estación Experimental Agropecuaria de INTA localizada en Villa Mercedes, provincia de San Luis. Este trabajo se inserta en un convenio de vinculación tecnológica entre el INTA, el Conicet y la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agropecuarias (FICA) de la Universidad Nacional de San Luis en el que se estudian la producción de topinambur y elaboración de harina que se incorporará en alimentos destinados sobre todo a pacientes con problemas de salud como celiaquía y diabetes.

El extracto de topinambur se obtuvo mediante un proceso de extracción sólido líquido utilizando agua como solvente. Se procedió a lavar manualmente los tubérculos recién cosechados, se utilizó un cepillo para eliminar los restos de tierra y reducir la carga de microorganismos en la superficie para lo cual se los desinfectó con una solución de hipoclorito de sodio de 100 ppm y se los secó en corriente de aire. Los tubérculos limpios y secos fueron embalados en bolsas de tejido plástico y almacenados en cámara a 4-5 °C y una humedad relativa aproximada de 98%, hasta su uso.

En la etapa de extracción, inicialmente, se eliminó la cáscara mediante un pelado mecánico. Los tubérculos pelados fueron cortados en rodajas de aproximadamente 2 mm de espesor, utilizando una procesadora doméstica de alimentos. La extracción se llevó a cabo a 85°C en un sistema batch termostatzado en una relación solvente: sólido de 4:1 (v/p). El tiempo de extracción fue de 30 minutos manteniendo un nivel de agitación constante. El extracto se separó por etapas sucesivas de filtrado con muselina y papel de filtro. El filtrado se envasó en recipientes limpios. La solución obtenida se mantuvo refrigerada a 4°C hasta su análisis.

Para realizar estudios específicos y aumentar el tiempo de vida útil, el primer extracto de 7°Brix se concentró a 70°C usando un equipo de destilación a vacío. La temperatura de ebullición se mantuvo constante a 70°C utilizando una bomba de vacío. Se alcanzó una concentración final de 60°Brix. Este concentrado se conservó a temperatura ambiente en condiciones de anaerobiosis.

El jarabe de 60°Brix fue secado a 75° C en estufa de bandejas. El producto seco obtenido se almacenó en recipientes cerrados y lugar fresco hasta su utilización.

Sólidos solubles totales (SST), densidad relativa y extracto seco

El contenido de sólidos solubles totales (SST) en °Brix se determinó con un refractómetro Abbé portátil a 20°C. La densidad relativa, 20°C/20°C, se determinó por medio del picnómetro siguiendo el

procedimiento del método oficial AOAC 935.30. El extracto seco se define, como el residuo que queda, luego de evaporar las sustancias solubles del jarabe de topinambur. El contenido de sólidos solubles expresados en g/l se calculó a partir de los datos de densidad relativa con la tabla de equivalencias descrita en Métodos Oficiales de Análisis de Zumos de Frutas y otros vegetales y sus derivados.

Conductividad eléctrica y pH

La conductividad eléctrica y el pH a 20°C se midieron con un instrumento marca Hanna modelo HI 98129.

Acidez total

La acidez total se valoró potenciométricamente con una disolución alcalina, (NaOH 0,1 N), hasta pH 8,1 del extracto de topinambur. Los resultados se expresan en gramos de ácido cítrico/ 100 ml de muestra.

Proteínas Totales

El contenido de proteínas totales se determinó en la muestra de jarabe de 7°Brix por el Método de Kjeldhal AOAC 991.22. El método Kjeldahl permite determinar el nitrógeno orgánico presente en la muestra, o sea es un método indirecto para valorar proteínas totales. El dato que se obtiene como contenido de nitrógeno, deberá ser afectado por el factor 6,25 para ser llevado a Proteínas Totales. En alimentos de origen vegetal, dicho factor de conversión proviene de una relación que se efectúa teniendo en cuenta el porcentaje de N que poseen normalmente estas proteínas vegetales (16%).

Cenizas

La determinación de cenizas se llevó a cabo según el método descrito en Métodos Oficiales de Análisis de Zumos de Frutas y otros vegetales y sus derivados. Una muestra homogeneizada de 25 ml de extracto se añadió a una cápsula previamente tarada. Se calentó en un baño de arena a 242°C hasta carbonizar la mayor parte sustancia orgánica. El estudio se completó en mufla Marca Indef (Modelo 134) a 525°C durante 8 hs.

Contenido de inulina mediante HPLC

Muestras de extracto de topinambur fueron enviadas a la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires, Cátedra de Bromatología, Nutrición y Toxicología, con la finalidad de ser sometidos a la cuantificación de fructanos mediante Técnica Analítica por HPLC.

Este método consiste en la extracción de los fructanos totales presentes en la muestra, y su cuantificación en equipo de Cromatografía Líquida de Alto Desempeño con detector de índice de refracción (HPLC-RI). La metodología aplicada se detalla en Zuleta y Sambucetti (2001).

Caracterización por Espectroscopía FTIR

En este trabajo se utilizó un espectrómetro marca Perkin Elmer modelo Spectrum RXI utilizando pastillas preparadas con KBr. Las muestras analizadas fueron inulina comercial marca Terrium y extracto de topinambur deshidratado. El sólido seco del extracto se obtuvo mediante un proceso en dos etapas consecutivas de concentración. En la primera de ellas, el extracto se concentró hasta 60°Brix en un rotavapor equipado con un balón de 2 l, unidad de refrigeración y bomba de vacío, la temperatura de ebullición se mantuvo en 70°C. En la segunda etapa el concentrado de 60 °Brix se colocó en estufa a 75°C hasta peso constante.

Caracterización de las muestras por espectroscopía UV-Vis

Se utilizó la técnica de espectroscopía Uv-Vis para investigar la presencia de taninos en el extracto de topinambur. El espectro de absorción fue realizado en un equipo UV-1800 Shimadzu UV Spectrophotometer. Las muestras obtenidas de la extracción sólido-líquido, se centrifugaron y posteriormente se filtraron con filtro de 1µm de poro. Se tomaron alícuotas de 1 ml y se colocaron en celdas de polipropileno de 1 cm.

3. Resultados y Discusión

Propiedades fisicoquímicas

El extracto obtenido del proceso de lixiviación topinambur/agua es un líquido de color parduzco claro, olor agradable y sabor ligeramente dulce.

La Tabla 1 registra las propiedades fisicoquímicas del extracto de topinambur utilizado en este trabajo. **Los resultados experimentales muestran que la solución acuosa obtenida del proceso de extracción sólido-líquido es ligeramente ácida.** La concentración de sólidos solubles, al finalizar el proceso, fue de 7°Brix; este valor es consistente con los encontrados en otros estudios de extracción de inulina a partir de topinambur (Rubel *et al.* 2018). Estos investigadores estudiaron las variables operacionales de la etapa de extracción a efectos de optimizar el rendimiento en inulina, encontrando que la asistencia de ultrasonido no aportaba mejoras en el proceso y la operación de extracción sólido-

líquido con agua caliente mostraba los mayores valores de rendimiento en inulina.

Tabla 1. Propiedades de fisicoquímicas del extracto de topinambur.

Parámetro	Valor
Conductividad, mS/cm (20°C)	8,24
Residuo Seco (SDT), en g/L	48,84
Cenizas (g/100ml de muestra)	0,6
Proteínas Totales (%p/p)	0,7 ± 0,1
pH	6,48
Sólidos solubles (°Brix a 20°C)	7,00
Densidad relativa (a 20°C)	1,0189
Acidez (como ácido cítrico)(%p/p)	0,0394

Desde el punto de vista de la conservación, la concentración de SST lograda es **baja, por lo que se deberá aplicar algún proceso de preservación para prolongar su vida útil.** Una alternativa consistiría en almacenarlo a concentraciones mayores eliminando parte del contenido de agua controlando la temperatura a fin de mantener la composición de fructanos. Se ha estudiado la estabilidad térmica de la inulina y se ha encontrado que se produce una degradación significativa (20-100%) con formación de nuevos productos cuando se la somete a un proceso de calentamiento de 135°C a 200°C (Trabs *et al.* 2009)

Respecto al contenido de proteínas, desde la bibliografía se conoce que los tubérculos de topinambur contienen entre 1 y 2% de proteínas, y esta fracción proteica contiene aminoácidos esenciales en proporciones favorables. Los resultados experimentales del extracto de topinambur muestran un contenido comparable respecto a otros publicados (Rubel *et al.* 2018).

Los tubérculos de topinambur poseen un alto contenido mineral. Son especialmente ricos en hierro (0,4 a 3,7 mg/100 g), calcio (10 a 37 mg/100 g) y potasio (420 a 657 mg/100 g). Sin embargo, tienen relativamente poco sodio (1,8 a 20 mg/100 g). Como consecuencia de su alto contenido de minerales y especialmente de su relación sodio/potasio, el topinambur es adecuado para patologías que presentan hipertensión (Scollo *et al.*, 2011). La determinación de cenizas permite conocer el total de las sustancias minerales presentes en el alimento. **El valor de cenizas obtenido para el extracto de topinambur en nuestro trabajo es superior a los hallados por otros investigadores** (Rubel *et al.* 2018). No se registró la presencia de grasas.

Cromatografía HPLC

El contenido de inulina en los tubérculos puede variar desde 7 a 30% de peso fresco (alrededor de 50% de peso seco). Una investigación sobre la estabilidad química de la inulina en solución acuosa, (Glibowski y Bukowska, 2011), permitió concluir que la misma disminuye en un medio acidificado a $\text{pH} \leq 4$ cuando la temperatura y el tiempo de calentamiento aumentan, lo que sugiere que la inulina tiene aplicaciones limitadas en alimentos ácidos ($\text{pH} \leq 4$), especialmente cuando estos son calentados a temperaturas superiores a 60°C. En medios neutros o alcalinos, la inulina es químicamente estable independientemente del pH, la temperatura y el tiempo de calentamiento, lo que implica que la degradación de la misma no tendría lugar en productos con $\text{pH} \geq 5$ calentados hasta 100°C.

El **cromatograma HPLC del extracto de topinambur de 7°Brix evidenció picos característicos asignados a fructanos** (Zuleta y Sambucetti, 2001). En la Figura 1 se muestra el perfil hallado y los resultados del análisis cuantitativo permitieron determinar una concentración de inulina del 2,25 %, expresada como gramos de inulina por cada 100 gramos de fructanos totales en la muestra a 7°Brix.

El pico de inulina corresponde a un tiempo de retención de 6,7 minutos. Además, se observa la presencia de compuestos provenientes de la hidrólisis de inulina, comportamientos similares se registran en la bibliografía (Mudannayake *et al.*, 2015).

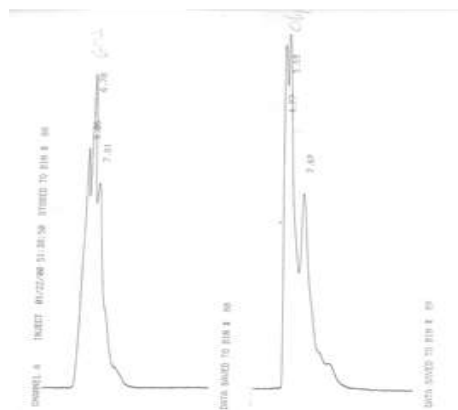


Figura 1. Cromatograma del extracto (7°Brix)

Bach *et al.*, 2012 han demostrado que el tiempo y la temperatura de almacenamiento de los tubérculos condicionan el grado de polimerización de los fructanos y que la inulina se degrada en polímeros de cadena más corta durante la hibernación. En las etapas iniciales, los tubérculos tienen un contenido

mayor de fracciones polimerizadas y a medida que transcurre el tiempo de almacenamiento la actividad enzimática ocasiona la hidrólisis de las moléculas de inulina a FOS, sacarosa y fructosa.

Espectroscopía FTIR

En lo referente a la información proveniente de los espectros de FTIR realizados tanto para el extracto de topinambur como para la inulina comercial se puede decir que la espectroscopía de FTIR permite caracterizar a las moléculas en lo referente a la presencia o ausencia de ciertos grupos funcionales, los cuales representan sus huellas dactilares. A través de la comparación con espectros conocidos se puede llevar a cabo fácilmente la identificación de compuestos en base de las señales de sus grupos funcionales. La especificidad de los carbohidratos se origina a partir de la conformación y configuración de los grupos O-H, C-O, C-C y C-H dentro del esqueleto base.

En la Figura 2 se muestra el espectro FTIR de inulina comercial en polvo y de la muestra de extracto de topinambur seco.

Los espectros de las muestras de inulina comercial e inulina del extracto, se pueden dividir en cuatro regiones características, desde 3600 a 2500 cm^{-1} , 2500 a 1550 cm^{-1} , 1500 a 900 cm^{-1} y valores por debajo de los 900 cm^{-1} . En este último intervalo se encuentran las señales que caracterizan a esta región como la zona de la huella dactilar de la molécula en cuestión.

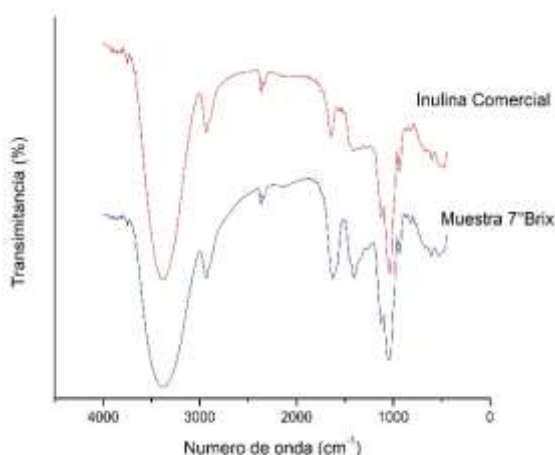


Figura 2. Análisis de FTIR de muestra de inulina comercial y extracto de topinambur.

En la zona de los 3300 cm^{-1} encontramos una banda ancha debida a la vibración de enlace de los grupos O-H (estiramiento oxhidrilo). En la región comprendida entre los 3000 y 2700 cm^{-1} observamos una banda aguda de intensidad media cercana a los

2930 cm^{-1} que se asigna al estiramiento asimétrico C-H de los grupos metilenos (CH_2) y un hombro apenas perceptible a 2890 cm^{-1} que se asigna con el estiramiento simétrico del mismo grupo. En la segunda región encontramos las bandas de estiramiento de grupo carbonilo, debidas a las estructuras abiertas en equilibrio con las formas hemiacetálicas de glucosa y manosa. Esta banda es pronunciada en la muestra del extracto de topinambur al ser este un producto natural sin refinamiento conteniendo además de fructosa libre, glucosa y manosa libres, pero también atribuible a grupos carbonilo de enlaces amido o peptídicos de proteínas que son extraídas también en medio acuoso, en tanto que en la muestra comercial la señal es de baja intensidad indicando la presencia de los compuestos mencionados solo como trazas. Wu y Lee (2000) informaron en análisis de FTIR de inulina se encontraron bandas características asociadas a grupos OH en 3353 cm^{-1} y C=O en 1745 cm^{-1} . En ambos espectros de la Figura 2 se observan bandas en 3378 cm^{-1} correspondiente a grupos OH

La región espectral comprendida entre 1500 y 900 cm^{-1} está dominada por la secuencia compleja de picos intensos debidos principalmente a los acoplamientos fuertes de los estiramientos C-C, C-O y los modos de deformación C-O-H y C-O-C de varios oligo y polisacáridos. En esta región encontramos a 1330 y 1400 cm^{-1} dos bandas que fueron atribuidas a las vibraciones de flexión en el plano de CH, CH_2 y los grupos O-H del anillo de fructosa, donde la primera señal corresponde a las deformaciones simétricas y la segunda señal a las asimétricas. A 1030 y 1130 cm^{-1} se observaron las bandas de estiramiento de C-O y C-O-C y los modos anulares de vibración de estructuras cíclicas. En la Figura 2 se registran señales en 933 cm^{-1} , esta banda ha sido asignada a inulina por Bekers *et al.* (2005).

En la última región, por debajo de los 900 cm^{-1} la huella dactilar, se observaron una variedad de bandas características muy útiles para el estudio conformacional de los carbohidratos. Las bandas a 670, 650 y 590 cm^{-1} indican la presencia de anillos de piranosas.

La diferencia entre la inulina comercial y la extraída bajo la forma de jarabe aparece en la zona de 800 a 600 cm^{-1} donde se hace notable la variación por la presencia de glucosa, sacarosa y manosa (Haikiki, M. *et al.* 2015). En los estudios de cromatografía HPLC también se habían encontrado picos asignados a compuestos provenientes de la hidrólisis de inulina tal como glucosa.

Espectroscopía UV- Vis

Durante el procesamiento de los tubérculos de topinambur para la extracción de inulina, se observó

un cambio de color marcado, este comportamiento sugeriría la presencia de polifenoles o bien formación de melanoidinas como productos de la reacción de Maillard. Dado que el nivel de temperatura del proceso de extracción es bajo, no se esperaba encontrar moléculas melanoides. Pan *et al.* (2009) informaron que el tubérculo de topinambur contiene compuestos fenólicos como constituyentes bioactivos. En un estudio sobre la presencia de taninos en topinambur, Seljasen y Slimestad (2015), encontraron que la cáscara de topinambur posee elevadas cantidades de compuestos fenólicos con una elevada capacidad antioxidante, sin embargo su concentración en la pulpa del tubérculo es baja y sin actividad antioxidante. Los extractos de taninos vegetales con pesos moleculares por arriba de 3000 Da, absorben a longitudes de onda más bajas que otras moléculas. Los grupos cromóforos más importantes de estos extractos son compuestos aromáticos y la presencia de grupos auxóchromos modifica el espectro de absorción. El desplazamiento de electrones en los anillos aromáticos no es grande por eso se produce el desplazamiento de absorción a la región ultravioleta.

Debido a la complejidad de la composición de los taninos vegetales, la identificación de la naturaleza de estos extractos es muy difícil y se requiere el uso de técnicas avanzadas. Grasel y Wolf (2016) estudiaron la presencia de taninos en 47 muestras de extractos vegetales y concluyeron que la técnica de espectroscopía ultravioleta es una técnica rápida y sencilla que proporciona información sobre las principales bandas de absorción que están relacionadas con la composición química y la estructura.

Para estudiar la presencia de taninos en la muestra del extracto de topinambur, se llevaron a cabo estudios en el espectrofotómetro Uv-Vis, donde los taninos son transparentes en la región visible. Estos compuestos absorben en la región característica para anillos aromáticos donde los electrones conjugados π en un anillo aromático provee características de absorción de moderada intensidad cerca de 205 nm y de menor intensidad en la banda entre 259- 275 nm.

El análisis del espectro de absorción de la muestra de extracto de topinambur de 7°Brix está concentrado en una banda de longitudes de onda entre 247 y 351 nm y de pequeña intensidad de absorbancia. A partir de estos resultados se puede inferir que el jarabe contiene una baja concentración de taninos que absorben en la zona de menor intensidad para estos cromóforos, y su presencia podría justificarse especialmente por la presencia de restos de cáscara provenientes de la etapa de pelado.

4. Conclusiones

El extracto obtenido del proceso de lixiviación topinambur/agua es un líquido de color parduzco claro, olor agradable y sabor ligeramente dulce. Posee pH de 6,48 y 7°Brix de sólidos solubles totales. El contenido de inulina es del 2,25% (g de inulina/100 g de fructanos totales), se recuperan proteínas en bajo porcentaje y minerales en cantidades apreciables.

La concentración al vacío permite obtener un producto de mayor vida útil conservando el carbohidrato de interés.

Los estudios de FTIR y Uv-Vis permitieron confirmar la presencia de inulina y taninos.

El extracto de topinambur obtenido podría usarse como aditivo en diferentes tipos de alimentos funcionales como bebidas, galletas, yogures, helados y postres.

El extracto podría mejorar sus propiedades sensoriales realizando una etapa posterior de purificación mediante carbonatación seguido de un tratamiento con carbón activado.

5. Referencias

Bach, V.; Kidmove, U.; Bjørn G.; Edelenbos, N. (2012). *Effect of harvest time and variety on sensory quality and chemical composition of Jerusalem artichoke (Helianthus tuberosus L.) tubers*. Food Chemistry, 133, 82-89.

Bekers, M., Grube, M., Upite, D., Kaminska, E., Linde, R., Danilevich, A. (2005) *The effect of exo-inulase and dehydration temperature on carbohydrates of Jerusalem artichoke*. Proceedings of the InTraFood 2005, Valencia, Spain, Vol. II, 867-870.

Glibowski, P.; Bukowska, A. (2011). *The effect of pH, temperature and heating time on inulin chemical stability*. Acta Sci. Pol., Technol. Aliment. 10(2), 189-196.

Grasel, F.; Ferrão Flôres M. (2016). *Ultraviolet spectroscopy and chemometrics for the identification of vegetable tannins*. Industrial Crops and Products 91, 279–285

Kalyani, N.; Kharb, S.; Thomkinson, D. (2010). *Inulin dietary fiber with functional and health attributes-a review*. Food Rev. Int., 26 (2), 189-203.

Li W., Zhang J., Yu Ch., Li Q., Dong F., Wang G., Gu G., Gui Z. (2015). *Extraction, degree of polymerization determination and prebiotic effect*

evaluation of inulin from Jerusalem artichoke. Carbohydrate Polymers 121, 315-319.

Lingyun W., Jianhua W., Xiadong Z., Da T., Yalim Y., Chenggang C., Tianhua F., Fan Z. (2007). *Studies on the extracting technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers*. J. of Food Eng. 79, 1087-1093.

Métodos Oficiales de Análisis de Zumos de Frutas y otros vegetales y sus derivados. España (1988).

Mudannayake, D.; Wimalasiri, K.; Silva, K. y Ajlouni S. (2015). *Comparison of properties of new sources of partially purified inulin to those of commercially pure chicory inulin*. Journal of food science, Vol. 00, (0).

Hakiki, M.; Susilowati, A.; Iskandar Y.; Lotulung P. and Andayani D. (2015). *Characterization of inulin Local Red Dahlia (Dahlia sp. L) tubers by Infrared Spectroscopy*. Procedia Chemistry 16, 78-84

Official Methods of Analysis of AOAC International (1990).

Okada, N.; Kobayashi, S; Moriyama, K.; Miyataka, K.; Abe, S.; Sato, C.; Kawazoe, K. (2017). *Helianthus tuberosus (Jerusalem artichoke) tubers improve glucose tolerance and hepatic lipid profile tionship of Diffuse to Total Radiation in Canada*, Solar Energy 18 (1), 153-156.

Pan, L.; Sinden, M.; Kennedy, A.; Chai, H.; Watson, L.; Graham, T.; Kinghorn D. (2009) *Bioactive constituents of Helianthus tuberosus (Jerusalem artichoke)*. Phytochemistry Letters. Vol. 2 (1), 15-18.

Rubel, I.; Iraporda, C.; Novosad, R.; Cabrera, F.; Genovese, D. y Manrique G. (2018). *Inulin rich carbohydrates extraction from Jerusalem artichoke (Helianthus tuberosus L.) tubers and application of different drying methods*. Food Research International, 103, 226-233.

Seljasen, R.; Slimestad, R.; (2015). *Fructooligosaccharides and Phenolics in Flesh and Peel of Spring Harvested Helianthus tuberosus*. Proc. Ist IS on Hum. Health Effects of F&V Ed.: Y. Desjardins Acta Hort. 744, ISHS 2007.

Scollo, D.; Ugarte, M.; Vicente, F.; Giraudo, M.; Sanchez Tuero, H.; Mora, V. (2011). *El potencial del topinambur en la salud y la nutrición*. Diaeta vol. 29 (137).

Trabs, K.; Kasprick, N.; Henle, T. (2009). *Isolation of reaction products resulting from heat-induced degradation of inulin*. Czech. J. Food Sci. Vol. 27, (S166-S168).

Zuleta, A. y Sambucetti, M.E. (2001). *Inulin determination for food labeling*. J. Agric. Food. Chem, 49, 4570-72.

Wu, L.; Lee, P. (2000) *Preparation and characterization of inulin ester microspheres as drug carriers*. J. Appl. Polym. Sci. 77, 833-840.

43TCA. Análisis del comportamiento de semillas de *Citrus limon* L. Burm vc. *eureka* frente a procesos de deshidratación controlada

The desiccation response of *Citrus limon* L. Burm vc. *eureka* seeds using controlled drying conditions

Juliana Marcela Orjuela-Palacio¹, Natalia Graiver¹, M. Victoria Santos^{1,2}, Noemí E. Zaritzky^{1,2}.

1. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CONICET, Facultad de Ciencias Exactas UNLP, CIC-PBA, Argentina), Calle 47 y 116 La Plata- Buenos Aires.
2. Depto. de Ingeniería Química- Facultad de Ingeniería (Universidad Nacional de La Plata, Argentina), Calle 1 y 47 La Plata Buenos Aires.

Resumen

La conservación de semillas de cítricos a mediano y largo plazo requiere analizar su tolerancia a la desecación. Se sometieron semillas *Citrus limon* L. Burm vc. *eureka* a 8 condiciones de humedad relativa de equilibrio (HR%) en un rango 11-95% a 20 °C, evaluando el porcentaje de germinación (%G). Se determinó la composición centesimal y la actividad acuosa (a_w) de las semillas. Se evaluó la cinética de desecación a 20 °C; se analizó y modeló la isoterma de sorción mediante las ecuaciones de GAB y D'arcy & Watt. Se aplicó calorimetría diferencial de barrido (DSC) para identificar las transiciones de fusión de lípidos y de agua en las semillas. La semilla presentó una humedad inicial del 44.67% (b.h) y un contenido lipídico de 22.21% (b.h). El contenido de agua de monocapa de GAB fue 0.080 (g agua/ g b.s); el modelo de D'arcy & Watt fue el que mejor describió la isoterma de sorción. El %G se cuantificó a los 9, 16, 21 y 25 días y se observó que existieron diferencias significativas entre los tratamientos utilizando diferentes HR%. Las semillas parcialmente desecadas entre un 11-33 %HR mostraron diferencias significativas con las semillas sin desecar, obteniendo un %G entre 80-83.3%.

Palabras clave: Semillas de cítricos, Desecación, Germinación, isoterma de sorción.

Abstract

The long-term storage of *citrus* germplasm requires analyzing the desiccation tolerance of whole seeds. *Citrus limon* L. Burm vc. *eureka* seeds were desiccated using 8 relative humidities (HR%) until equilibrium conditions were reached (range of 11-95% at 20 °C) and the percentage of germination (% G) was determined for each case. The chemical composition of seeds and water activity were obtained. The moisture sorption isotherm was determined and modeled using the GAB and Darcy & Watt equations and the water content as a function of the desiccation period was evaluated. Differential scanning calorimetry (DSC) was applied to identify the water and lipid melting transitions. The seed presented an initial humidity of 44.67% (w.b.) and a lipid content of 22.21% (w.b.). The GAB monolayer water content was 0.080 (g water / g dry basis); the Darcy & Watt model shows a better fitting of experimental results. The %G was quantified at 9, 16, 21 and 25 days and significant differences were observed between treatments with different HR%. Citrus seeds that were partially desiccated in the range of 11 a 33% HR shows significant differences with seeds without treatment having %G between 80-83.3%.

Keywords: Citrus seeds, desiccation, germination, sorption isotherms.

1. Introducción

Argentina es el octavo productor mundial de cítricos con 2.600.000 toneladas/año, de las cuales el 60%

corresponde a limones (Federación Argentina de Cítricos, www.federcitrus.org), siendo de gran importancia estratégica la conservación de su germoplasma a mediano y largo plazo.

El germoplasma de cítricos ha sido tradicionalmente conservado *ex situ* en viveros y centros de investigación, siendo vulnerables a pestes, enfermedades y desastres naturales (Hong y Ellis, 1995; Lambardi *et al.*, 2004; Graiver *et al.*, 2011). Además, la microflora asociada a las semillas (hongos y bacterias) representa un problema importante en condiciones de almacenamiento de las semillas sin tratamiento (FAO, 2014). Resulta por lo tanto necesaria la conservación de las semillas en bancos de germoplasma, manteniendo la diversidad genética y su disponibilidad para agricultores.

Las semillas pueden ser clasificadas según la tolerancia a la desecación en tres categorías: recalcitrantes, intermedias y ortodoxas. Las semillas ortodoxas pueden ser desecadas hasta contenidos de humedad muy bajos sin sufrir daños; las recalcitrantes que incluyen semillas de frutos tropicales no toleran la desecación por debajo de un contenido de humedad relativamente alto sin causarles daño irreversible. Una tercera categoría de semillas que toleran la desecación entre 10% y 12,5% en base húmeda se denomina intermedia (Farrant *et al.*, 1993, Graiver *et al.*, 2011 Zaritzky, 2015).

Para el género *Citrus* existe una variación considerable en las condiciones de almacenamiento ya que existen especies de semillas que se encuentran en alguna de las tres categorías mencionadas (King y Roberts, 1980; Hong y Ellis, 1995).

Debido a que existen gran cantidad de especies cítricas clasificadas como no-ortodoxas, se requieren técnicas de conservación ya sea a mediano plazo con refrigeración (5 °C) (Villegas-Monter y Andrade-Rodríguez, 2005) o en bancos de criopreservación donde las semillas se someten a una congelación rápida a muy bajas temperaturas (-196 °C), para su conservación a largo plazo (Hor *et al.*, 2005).

El conocimiento de los mecanismos de tolerancia y sensibilidad a la desecación son de gran interés (FAO, 2014) para desarrollar estrategias de conservación. Ya sea que se vaya a conservar a mediano o largo plazo, es importante optimizar el contenido de humedad y las condiciones de germinación (Graiver *et al.*, 2011).

Una conservación inadecuada puede disminuir la viabilidad de las semillas.

El secado excesivo influye sobre la viabilidad de semillas de varias especies cítricas disminuyendo su poder germinativo. Es importante considerar que la pérdida de viabilidad y capacidad de germinación dependen de la especie (Hamilton *et al.*, 2009),

tratamiento de pre-almacenamiento y condiciones de almacenamiento (Villegas-Monter y Andrade-Rodríguez, 2005).

Una de las variedades de limón cultivadas en Argentina es *vc. eureka*. Son plantas vigorosas, con pocas espinas y refrlorescente. Tiene un muy buen rendimiento y su producción se concentra en invierno (alrededor del 70 %) y en verano (un 30 %). Sus frutos tienen buena forma y tamaño, con pocas semillas, buen contenido de jugo y un nivel de acidez adecuado.

Esta variedad se destina al mercado interno y se utiliza principalmente para consumo en fresco, aunque posee buen rendimiento industrial (SINAVIMO, <http://www.sinavimo.gov.ar>; Landa, 2014). La variedad eureka se encuentra en el banco de germoplasma protegido de cítricos y géneros afines del INTA Concordia, Entre Ríos.

El objetivo del presente trabajo fue investigar la tolerancia a la desecación de las semillas de *Citrus limon* L. Burm *vc. eureka* en condiciones controladas de humedad relativa (HR%), rango del 11 al 85%, evaluando el poder germinativo y las propiedades de sorción para establecer las condiciones óptimas previo a la conservación a mediano o largo plazo. Conocer la respuesta a la desecación de *Citrus limon* L. Burm *vc. eureka* permitirá definir las condiciones adecuadas de almacenamiento en virtud de mantener la viabilidad del germoplasma vegetal.

2. Materiales y métodos

2.1 Semillas

Las semillas se extrajeron manualmente de limones *Citrus limon* L. Burm *vc. eureka*, provistos por la Estación Experimental Agropecuaria del INTA Concordia, Entre Ríos. La adecuación de las semillas se hizo según el protocolo de De carlo *et al.*, (2011) con modificaciones. Las semillas se sumergieron en etanol (70% v/v) durante 5 minutos, seguido de una inmersión en una solución de hipoclorito de sodio (2% p/v) durante 15 minutos. Se realizaron 3 lavados con agua destilada y se secaron rápidamente con papel absorbente.

La testa se retiró previo a la etapa de desecación (Figura 1) con el fin de favorecer el proceso de germinación; estudios previos reportaron que la presencia de la testa disminuye el poder germinativo (Cho *et al.*, 2000; Graiver *et al.*, 2011) en otras semillas cítricas

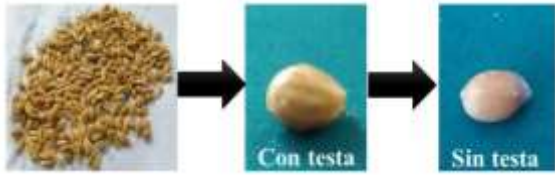


Figura 1. Adecuación de semillas de *Citrus limon L.* Burm vs. eureka

2.2 Caracterización de las semillas

2.2.1 Composición centesimal

El contenido de humedad se determinó mediante el secado de la muestra en estufa a 105 ± 2 °C hasta alcanzar un peso seco constante (AOAC, 2010). El contenido de proteína total se determinó por el método de Kjeldahl (AOAC, 2010), utilizando como factor de conversión 6.25.

La determinación del contenido lipídico se realizó por el método de Soxhlet en semillas previamente molidas y secadas en estufa (105 °C), utilizando como solvente éter de petróleo (pe: 40-60 °C). (AOAC, 2010).

El contenido de cenizas se obtuvo mediante la calcinación de las semillas previamente molidas y secas en mufla a 550 °C hasta cenizas blancas (AOAC, 2010). El contenido de carbohidratos se determinó por diferencia.

2.2.2 Actividad acuosa

Para medir la actividad acuosa de las semillas se utilizó un equipo AquaLab Series 4TEV, (Decagon Devices Inc., Pullman, WA, USA), calibrado con una solución de LiCl ($a_w = 0.113 \pm 0.002$), NaCl ($a_w = 0.753 \pm 0.002$) a 20 °C. El equipo utiliza la técnica de punto de rocío por condensación sobre un espejo sometido a enfriamiento controlado eléctricamente basado en el efecto Peltier.

2.3 Tolerancia a la desecación

La tolerancia a la desecación de las semillas de limón se estudió mediante curvas de deshidratación a 20 °C. Las semillas se colocaron en recipientes herméticos que contenían soluciones saturadas de sales generando diferentes humedades relativas de equilibrio (HR%). Se utilizaron ocho condiciones de HR% con un total de 50 semillas en cada condición [Cloruro de Litio (LiCl; 11.3%); Cloruro de Calcio (CaCl_2 29.5%); Cloruro de Magnesio (MgCl_2 ; 33%); Nitrito de Magnesio ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$; 54.4%); Nitrito de Sodio (NaNO_2 , 64%); Cloruro de Sodio (NaCl; 76%); Cloruro de Potasio (KCl; 85%) y Nitrito de Potasio (KNO_3 ; 95%). Las semillas sometidas a distintas HR se almacenaron en una cámara a 20 °C

y en oscuridad. Se pesaron 10 semillas por condición hasta alcanzar peso constante. El período de desecación fue de 25 días.

2.4 Isotherma de sorción

La isoterma de sorción de las semillas se determinó por el método gravimétrico estático a 20 °C (Rahman y Sablani, 2008; Dussert *et al.*, 2009 Graiver *et al.*, 2011). Los pesos de las muestras se midieron hasta alcanzar un valor constante (diferencia entre 2 pesadas consecutivas $< \pm 0.003$ g), donde se asume que se alcanzó el equilibrio; en estas condiciones la actividad acuosa (a_w) de la muestra puede considerarse igual a su correspondiente HR%/100 (Lomauro *et al.*, 1985). Cada punto de la isoterma se realizó por triplicado. El contenido de agua de las semillas en el equilibrio (W_c) se expresó en base seca (b.s). Para cada condición se determinó el contenido de humedad de la semilla en estufa a 105 ± 2 °C hasta alcanzar un peso seco constante (AOAC, 2010).

2.4.1 Modelado matemático de las isoterma de sorción de agua

La relación entre el contenido de humedad de equilibrio (W_c ; g agua/ g b.s) y a_w de las semillas se modeló mediante las ecuaciones de GAB (Guggenheim-Yerson-de Boer) y Darcy & Watt. La ecuación de GAB (ec. 1) se utiliza ampliamente en alimentos (Lomauro *et al.* 1985).

$$W_c = \frac{W_m K C a_w}{(1 - K a_w)[1 - K a_w + C K a_w]} \quad (1)$$

Donde, W_m es la humedad de monocapa (g de agua/ g b.s), C: constante de Guggenheim, característica de la muestra y relacionada al calor de adsorción de la monocapa, K: factor de corrección relacionado con el calor de sorción de la multicapa.

La ecuación de D'arcy & Watt con modificaciones introducidas por Dussert *et al.* (1999) ha sido utilizada para el modelado de isoterma de sorción en semillas (Graiver *et al.*, 2011).

$$W_c = K' + c a_w + \frac{k k' a_w}{1 - k a_w} \quad (2)$$

donde K' describe la sorción de los sitios fuertemente unidos expresado en g de agua/ g b.s; c, k y k' son parámetros específicos del modelo de D'arcy & Watt (Dussert *et al.*, 1999).

Los parámetros se estimaron mediante regresiones no lineales de los datos experimentales con el

programa Origin Pro v 8.0 (OriginLab Corp., Northampton, MA USA).

2.4.2 Selección del modelo de isoterma de sorción

Para la seleccionar el modelo que presenta mejor concordancia con los valores experimentales se evaluaron distintos parámetros estadísticos.

Se evaluaron ajustando regresiones lineales para los datos de W_c experimentales vs predichos. Se calculó el porcentaje de variación de la pendiente en el cual se encuentran el 95% de los datos experimentales y se calculó el coeficiente de determinación (R^2).

La bondad del ajuste se determinó mediante el porcentaje de error medio relativo (%E) que expresa la diferencia entre el los datos predichos y experimentales (ec. 3):

$$\%E = \frac{100}{n} \sum_{i=1}^n \frac{|W_{ci} - W_{cpi}|}{W_{ci}} \quad (3)$$

Dónde “n” es el número de datos experimentales, W_{ci} y W_{cp} los valores de humedad experimentales y predichos respectivamente. Lomauro *et al.*, (1985) concluyeron que un %E < 10% corresponde a un ajuste del modelo aceptable.

2.5 Análisis del comportamiento térmico por DSC

Se realizó el análisis del comportamiento térmico de la fracción de cotiledón de las semillas equilibradas a 8 humedades relativas y de la semilla control (sin desecación), mediante un equipo de Calorimetría Diferencial de barrido DSC Q-100 controlado por el módulo TA 5000 (TA Instruments; Estados Unidos), con accesorio de calentamiento-enfriamiento con nitrógeno líquido.

Se pesaron entre 7-15 mg de cotiledón en cápsulas de aluminio y se sellaron herméticamente; como referencia se utilizó una cápsula vacía. La velocidad de enfriamiento fue 30 °C/min hasta alcanzar -150 °C con isoterma de 10 minutos; la velocidad de calentamiento fue de 10 °C/min hasta 50 °C.

Para identificar la transición de fase correspondiente a los lípidos presentes en la semilla, entre 4-10 mg del extracto lipídico fueron analizados por DSC siguiendo el mismo protocolo aplicado a la semilla.

Los termogramas de calentamiento obtenidos se analizaron mediante el software TA Universal

Analysis 2000 (Estados Unidos), para determinar la entalpía en (J/g (b.h)) de la transición de fase y la temperatura de fusión. Después del análisis calorimétrico se perforaron las cápsulas y se secaron a 105±2 °C hasta alcanzar un peso seco constante.

2.6 Ensayos de germinación

La viabilidad de las semillas con y sin desecación previa, se analizó de acuerdo al poder germinativo (% de germinación). Para cada condición de HR% y el control se sembraron 30 semillas distribuidas en 6 cajas de Petri de 90x4.5 mm (5 semillas/caja) que contenían arena húmeda previamente acondicionada según Rao *et al.*, (2006). Se siguió un patrón equidistante cuidando que cada semilla quedara parcialmente cubierta por la arena (Figura 2).



Figura 2. Siembra de semillas en arena

Las cajas tapadas se almacenaron a 25 °C y en oscuridad (Hor *et al.*, 2005; Graiver *et al.*, 2011), realizando riegos periódicos y conteo de las semillas germinadas por día, tomando como criterio de germinación el brote del embrión (>2 mm).

Se calculó el porcentaje de germinación acumulada (%G; ec. 4) y se estudió la cinética de germinación.

$$\%G = \left(\frac{\# \text{ Semillas germinadas}}{\# \text{ Semillas sembradas}} \right) * 100 \quad (4)$$

2.7 Análisis estadístico

Para los resultados de humedad, entalpías y temperaturas por DSC, se aplicó el análisis estadístico de varianza (ANOVA). La comparación de medias se hizo mediante el test de la mínima diferencia significativa (LSD) de Fisher usando un nivel de significación $p < 0.05$, con el software SYSTAT v. 12.0 (SYSTAT Inc., USA, 2007).

Las observaciones sobre el número de semillas que germinan siguen una distribución binomial de probabilidad discreta que cuenta el número de éxitos en una secuencia de n ensayos independientes entre sí, con una probabilidad fija p de ocurrencia del éxito entre los ensayos (Kuel, 2001; Warton y Francis, 2011). Un experimento como la

germinación se caracteriza por ser dicotómico, esto es, sólo son posibles dos resultados (germina o no germina). A la germinación se denomina éxito y tiene una probabilidad de ocurrencia p y al otro, fracaso, con una probabilidad $q=1-p$.

Para analizar estadísticamente los resultados de germinación uno de los métodos consiste en previamente transformar los resultados mediante la aplicación de la función arcoseno. Esta transformación genera una distribución normal de los datos y estabiliza las varianzas. Estos son dos supuestos importantes y necesarios para poder utilizar análisis estadísticos como el ANOVA (Warton y Francis, 2011). La transformación de arcoseno ha sido ampliamente aplicada en la transformación de datos de germinación de semillas cítricas (Cho *et al.*, 2002, Walters *et al.*, 2004, Graiver *et al.*, 2011),

La probabilidad binomial estimada es $p=y/n$, donde y es el número de semillas germinadas por caja y n es el número total de semillas sembradas por caja. La variable transformada y' está dada por:

$$y' = \arcsin(p^{1/2}) \quad (5)$$

Debido a que en este trabajo se utilizó $n < 50$ la expresión modificada para calcular y' (Kuel, 2001; Graiver *et al.*, 2011) está dada por:

$$y' = \arcsin\left(\frac{(y+3/8)}{(n+3/4)}\right)^{1/2} \quad (6)$$

Tras la transformación de la variable se realizó el respectivo análisis de varianza y la comparación de medias por la prueba de LSD de Fisher.

Otros autores han aplicado para el análisis estadístico del porcentaje de germinación en semillas de cítricos la prueba de Chi-cuadrado (χ^2) (Lambari *et al.*, 2004; Bueno *et al.* 2009, Kaya *et al.*, 2017); dicha prueba es aplicable tanto a variables discretas como continuas y calcula cuán lejos se encuentran los datos observados (O) de los esperados (E) (ec. 7) (McDonald *et al.*, 2009).

$$\chi^2 = \sum \frac{(O-E)^2}{R} \quad (7)$$

Para determinar la existencia de diferencias significativas ($p < 0.05$) en los porcentajes de germinación en función de HR se construyeron las tablas de contingencia de 2x2 con grado de libertad=1, con el software Infostat v. 2016 (Grupo InfoStat, FCA, Argentina).

3. Resultados y Discusión

3.1 Caracterización de las semillas

Las semillas se obtuvieron a partir de limones L. Burm *vc. eureka* con un promedio de 12 ± 7 semillas/fruto, las dimensiones de la semilla sin testa fueron: $L= 8.63 \pm 1.2$ mm; $a= 6.02 \pm 0.8$ mm y $e= 4.24 \pm 0.53$ mm.

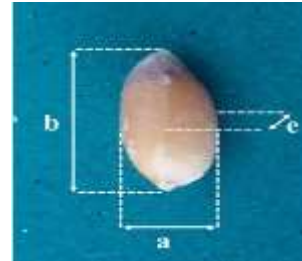


Figura 3. Dimensiones de semilla de limón sin testa.

La composición de la semilla de limón se presenta en la Tabla 1. El valor de a_w inicial fue de 0.961.

Tabla 1. Composición de la semilla de limón sin testa. (b.h = base húmeda).

Contenido	g / 100 g de semilla b.h
Humedad	44.67±4.33
Proteína	12.17±0.41
Lípidos	22.21±0.65
Cenizas	2.04±0.04
Carbohidratos*	18.93

*Valor calculado por diferencia.

3.2 Deseccación de las semillas

El contenido de agua (b.s) en función del tiempo de desecación a diferentes HR% y 20 °C se presenta en la Figura 4.

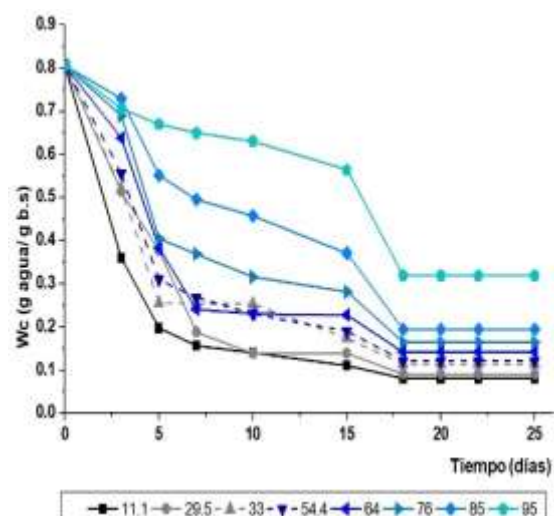


Figura 4. Cinética de secado de semillas para un rango del 11-95% HR.

Durante un periodo de 25 días la disminución en el contenido de agua sigue un comportamiento no lineal decreciente con velocidades que variaron en función de HR%. La velocidad de desecación es un factor importante en la conservación de la viabilidad de las semillas; cuanto más rápido se pueda llevar a cabo la desecación, menor será el contenido de agua al que se pueden secar las semillas antes de que se pierda la viabilidad (Cho *et al.*, 2002).

En el presente trabajo para las semillas *Citrus L. Burm* fue necesario un tiempo mínimo de 18 días para alcanzar el contenido de humedad final de equilibrio, presentando velocidades de secado muy bajas. Dussert *et al.*, (1999) reportaron para semillas de café (intermedias) un tiempo de desecación mínimo de 8 días a 78 HR% y 25 °C.

Al final del periodo de desecación las semillas expuestas a HR% ≤ 54.4 alcanzaron un 0.080 a 0.142 g agua/g b.s y para el rango comprendido entre 64-95% HR un W_c de 0.164 a 0.319 g agua/g b.s.

3.3 Propiedades de sorción

El conocimiento de las propiedades de sorción de agua es de gran interés en la predicción del estado físico del material biológico a diferentes condiciones (Graiver *et al.*, 2011).

Los datos experimentales de sorción de las semillas y las curvas predichas con los modelos de GAB y D'arcy & Watt modificado se presentan en la Figura 5.

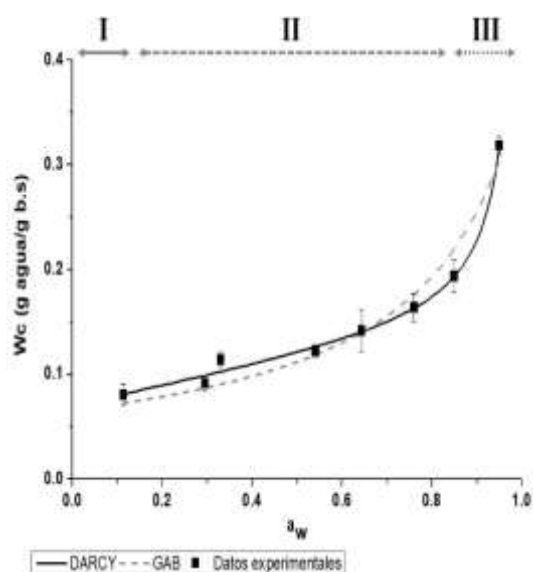


Figura 5. Datos experimentales y curvas de sorción predichas con los modelos de GAB y Darcy & Watt

modificado para semillas *Citrus limon L. Burm vc. eureka* a 20 °C. Regiones (I); (II); (III).

La isoterma presenta la forma esperada para el rango de HR% evaluado, similar al informado por Graiver *et al.*, (2011) para semillas de *C. Paradise*, *C. reticula vc. Criolla* y *vc. Dancy* y *C. sinensis* y *C. aurantifolia*, *C. grandis* y *C. madurensis* por Hor *et al.*, (2005). En la región I de la isoterma de sorción hay poca a casi ninguna actividad fisiológica, las semillas están en un estado inerte (dormancia); en la región II pueden presentarse procesos de envejecimiento de las semillas; en la región III pueden ocurrir procesos metabólicos normales (aunque la germinación no se iniciará a menos del 100% HR) (Gold *et al.*, 2014).

Los parámetros de las regresiones no lineales se presentan en la Tabla 2, junto con las pruebas estadísticas (R^2 ; %E) y la desviación porcentual de la pendiente para los intervalos al 95% de confianza.

La humedad de monocapa de GAB (W_m) fue mucho menor que la reportada para otras especies cítricas; cabe notar que para una HR de 11% la humedad final de la semilla en base seca (W_c) es igual al parámetro de la ecuación de GAB W_m que corresponde al valor de humedad de monocapa (0.08 g de agua/ g b.s)

Tabla 2. Parámetros de regresión y pruebas estadísticas (R^2 ; %E, Desviación) para las isotermas de sorción a 20 °C para semillas de *Citrus limon L. Burm vc. eureka*.

GAB		D'arcy & Watt	
Parámetro	Valores	Parámetro	Valores
W_m	0.080 (0.007)	K'	0.071 (0.0097)
K	0.8253 (0.018)	c	0.082 (0.0336)
C	1.917×10^{45}	k	0.996 (0.0260)
		k'	0.0097 (0.0064)
R^2	0.92	R^2	0.96
E%	11.379	E%	9.685
Desviación	8.92%	Desviación	2.72%

Valores entre paréntesis corresponden al error estándar.

Los parámetros de la ecuación de D'arcy & Watt (K' , c , k y k') fueron similares a los previamente reportados por Hor *et al.*, (2005) para otras semillas cítricas (*C. paradisi* y *C. reticula vc. Criolla*) (Graiver *et al.*, 2011).

Los datos experimentales de W_c versus los resultados predichos de las ec. 1 y 2 se presentan en

la Figura 6.a y 6.b, respectivamente. El modelo de D'arcy & Watt ajusta a la mayoría de los datos (LC= 95%) con una desviación del 2.72% frente a una desviación de 8.92% para el modelo de GAB.

El menor porcentaje de desviación junto con un menor valor de %E y R^2 mayor (Tabla 2) y un menor error en los parámetros muestran que la ecuación de D'arcy & Watt presenta mejor concordancia para modelar la isoterma de la sorción de semillas de limón.

3.3 Análisis del comportamiento térmico

En la figura 7 se presentan los termogramas de calentamiento para el cotiledón y el extracto lipídico de las semillas de limón.

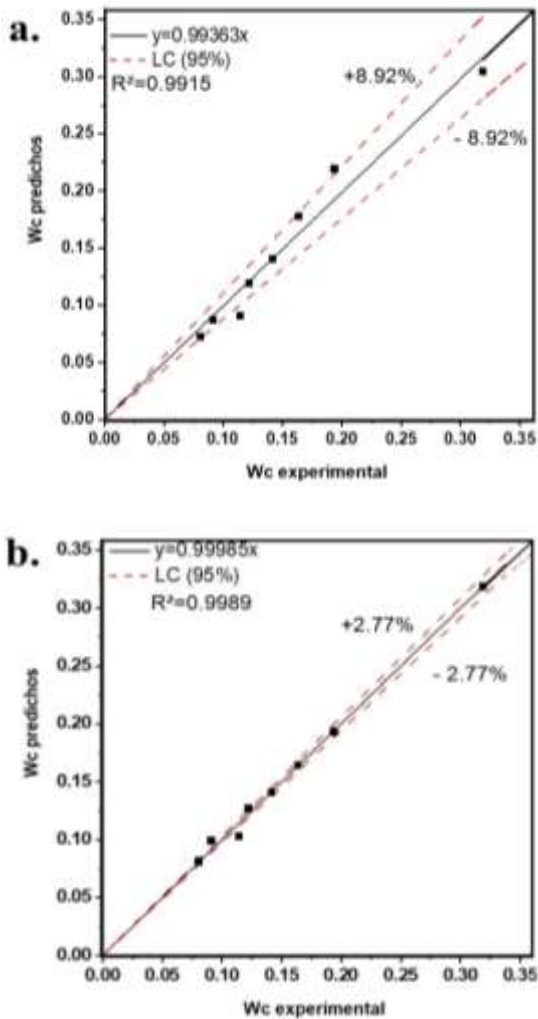


Figura 6. Regresiones lineales de los valores experimentales y los valores predichos con los modelos de GAB (a) y D'arcy & Watt modificado (b) para semillas *Citrus limon* L. Burm vc. eureka.

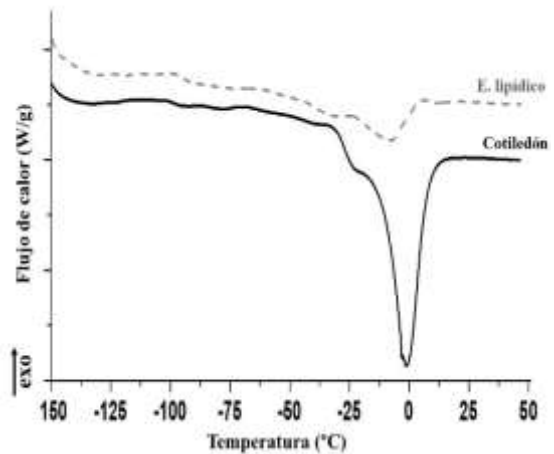


Figura 7. Termograma de calentamiento del cotiledón sin tratamiento de desecación (—) y del extracto lipídico (-----) de la semilla *Citrus limon* L. Burm vc. eureka.

En la curva correspondiente al cotiledón se observa un pico endotérmico notorio cercano a 0 °C correspondiente a la fusión de agua presente en la semilla ($T_p = -1.07$ °C), el hombro del pico situado a más bajas temperaturas se atribuye a la presencia de lípidos. Hor *et al.*, (2005) reportaron que en el análisis térmico por DSC del extracto lipídico de 4 especies cítricas, se encontró la presencia de transiciones endotérmicas idénticas a las encontradas en los termogramas de semillas con bajo contenido de agua. Hamilton *et al.*, (2009) observaron en cotiledones de semillas de cítricos *C. garrawayi*, *C. australasica*, y *C. indora* (30-54% de lípidos) transiciones de fase correspondiente a la fusión de lípidos (34.8-42.7 J/g lípido b.h) a temperaturas por debajo de la transición de fusión de agua; resultados similares se observaron en semillas de *C. paradise*, *C. reticula* vc. Criolla y vc. Dancy y *C. sinensis* (Graiver *et al.*, 2011).

Para las semillas *Citrus limon* L. Burm vc. eureka con un 22.21% de lípidos se identificó la transición de fusión de los lípidos con un valor de entalpía (ΔH_{lip}) de 10.06 ± 1.1 J/g lípido (b.s), dicha transición se produce en un rango de temperaturas próximo a la fusión del agua (Figura 7).

A medida que se reduce el contenido de agua por desecación a diferentes %HR disminuye el área del pico endotérmico (ΔH_T) y se observa con mayor claridad la superposición de las transiciones de fase de la fracción lipídica y de agua (Figura 8).

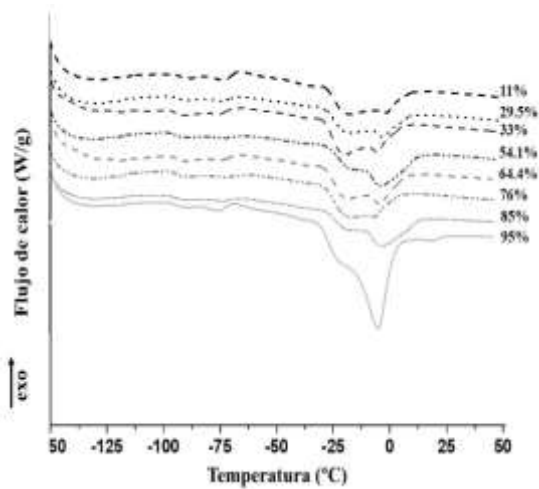


Figura 8. Termograma de calentamiento la semilla *Citrus limon* L. Burm. vc. eureka desecadas a diferentes humedades relativas (11 a 95% HR).

A partir de las entalpías de fusión se puede calcular el contenido de agua congelada (X_{fw}) (Ec. 8) y no congelada X_{uw} (Ec. 9) presente en la semilla (Rahman, 2009). El conocimiento de X_{uw} es de gran interés para la criopreservación del germoplasma de la especie cítrica.

$$X_{fw} = \frac{(\Delta H_m)_{semilla}}{(\Delta H_m)_w} \quad (8)$$

$$X_{uw} = X_{wT} - X_{fw} \quad (9)$$

donde $(\Delta H_m)_{semilla}$ es la entalpía de fusión del agua en la semilla (J/ g b.s) y se obtuvo por diferencia entre los valores de entalpía total (ΔH_T) y el valor de la entalpía de la transición de los lípidos (ΔH_{lip}); $(\Delta H_m)_w$ corresponde a la entalpía de fusión del agua pura (333.55 J/ g agua); X_{wT} es el contenido de agua total de la semilla.

La exposición de las semillas a un rango de 11 a 85% HR%, provocó un descenso significativo ($p < 0.05$) en el contenido de agua congelada respecto al control, observándose un corrimiento significativo ($p < 0.05$) de la temperatura de fusión para todas las condiciones.

Después de analizar el proceso de desecación se procedió a estudiar la germinabilidad de las semillas deshidratadas.

3.4 Germinación

Las semillas sin testa y sin desecación previa (Control) alcanzaron el 100% de germinación al día 25 después de la siembra (Figura 9).



Figura 9. Semillas (Control) germinadas a 25 °C en el día 25.

El comportamiento germinativo en un período de 25 días para las semillas desecadas y el control se presenta en la Figura 10.

Todos los tratamientos incluyendo el control requirieron un mínimo de una semana para iniciar la germinación; durante este tiempo las semillas se encontraban en la etapa de dormancia.

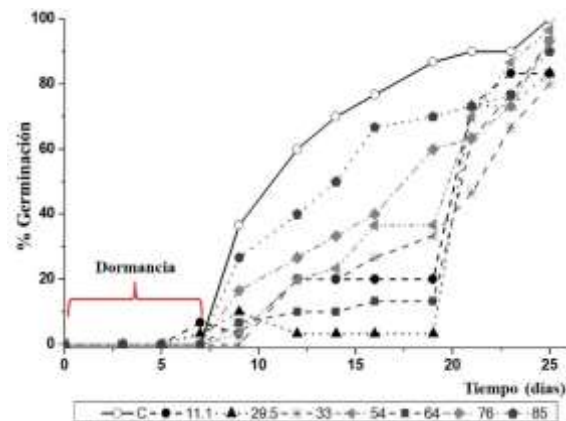


Figura 10. Comportamiento germinativo de las semillas desecadas y el control a 25°C durante 25 días.

Este periodo se extendió por un tiempo mayor para las semillas expuestas a HR% más bajas y cuyas humedades se encontraban entre 9 a 15% (b.h); esto pudo deberse a que la semilla debe rehidratarse para favorecer el proceso de germinación.

El análisis estadístico de los datos de germinación se realizó por la transformación de arcoseno con la comparación de medias por la prueba de LSD de Fisher y la prueba de χ^2 con tablas de contingencia de 2x2.

En la Tabla 3 se presentan los datos de porcentajes de germinación acumulada a 9, 16, 21 y 25 días de siembra para las 8 condiciones de desecación y el control; se presentan las comparaciones por χ^2 aunque ambos métodos arrojaron resultados comparables.

Tabla 3. Porcentaje de germinación acumulada a 9, 16, 21 y 25 días de siembra e índice de germinación de las semillas.

Tratamiento (%Humedad b.h)*	% Germinación acumulada			
	Día 9**	Día 16**	Día 21**	Día 25**
11.1 (9.76 ^a)	6.7 ^{ab}	20.0 ^{abc}	73.3 ^{bc}	83.3 ^{ab}
29.1 (12.11 ^{ab})	10.0 ^{abc}	10.0 ^a	73.3 ^{bc}	83.3 ^{ab}
33 (14.78 ^{bc})	0.0 ^a	26.7 ^{abc}	46.7 ^a	80.0 ^a
54.1 (15.97 ^{cd})	3.3 ^{ab}	36.7 ^c	70.0 ^{ab}	96.7 ^{bc}
65 (18.78 ^{de})	6.7 ^{ab}	13.3 ^{ab}	63.3 ^{ab}	93.3 ^{abc}
76 (21.65 ^e)	16.7 ^{bcd}	40.0 ^c	63.3 ^{ab}	93.3 ^{abc}
85 (25.07 ^f)	26.7 ^{cd}	66.7 ^d	73.3 ^{bc}	90.0 ^{abc}
C (44.67 ^g)	36.7 ^d	76.7 ^d	90.0 ^c	100.0 ^c

*Los valores entre paréntesis corresponden al contenido de humedad de las semillas al momento de la siembra. Diferentes superíndices indican diferencias significativas por columna ($p < 0.05$), calculado con la prueba LSD de Fisher.

**Diferentes superíndices indican diferencias significativas entre tratamientos por día (columna) ($p < 0.05$), calculado con la prueba de χ^2 .

Las semillas sin desecación previa presentaron un poder germinativo mayor a partir del día 9, seguido de las semillas expuestas a 76 y 85% HR ($p > 0.05$) (Tabla 3); en el día 16 el control alcanzó el 76.7% de germinación seguido del tratamiento 85% HR ($p > 0.05$).

Las semillas desecadas a 11 y 29% HR no presentaron diferencias significativas con el control y la condición de 85% HR ($p < 0.05$) en el día 21, alcanzando valores superiores al 70% de germinación acumulada; esto indica que las semillas aún estaban en la etapa de dormancia y toleraron la desecación a dichas condiciones.

En el día 25 se observó que las semillas expuestas a $11\% \leq HR \leq 33\%$ presentaron una disminución significativa ($p < 0.05$) del %G respecto al control con valores de %G = 80-83.3%. No se observaron diferencias significativas para los porcentajes de germinación de las semillas desecadas a $HR \geq 54\%$ con el control (Tabla 3). Al final del período de germinación todos los tratamientos presentaron porcentajes $\geq 80\%$, límite propuesto por la FAO para considerar pérdida significativa de viabilidad (FAO, 2014), siendo tolerantes a la desecación entre 11 y 85% HR.

Munford y Grout, (1979) reportaron que las semillas *Citrus limon* eran tolerantes a la desecación; Hor *et al.*, (2005) reportaron que las semillas de *C. aurantiifolia* no perdieron viabilidad cuando se desecaron a 8% HR; mientras que Graiver *et al.*, (2011) reportaron porcentajes de germinación menores al 80% para *C. reticula* *vc. criolla* desecadas a 11-43 %HR, *C. reticula* *vc. dancy* a 11% HR, *C. paradisi* entre 11-85% HR y *C. sinensis* en todas las condiciones de desecación, evidenciando que la especie y variedad influyen en la tolerancia a la desecación.

Incluso las condiciones ambientales y geográficas pueden influir sobre la tolerancia a la desecación de diferentes especies cítricas (Hamilton *et al.*, 2009).

En la Figura 11 se presentan los comportamientos típicos de tolerancia a la desecación para semillas (a)

Ortodoxas, (c) Intermedias, (e) Recalcitrantes. Otros dos patrones (b y d) pueden ser encontrados en especies con comportamiento ortodoxo e intermedio (Hong y Ellis, 1996).

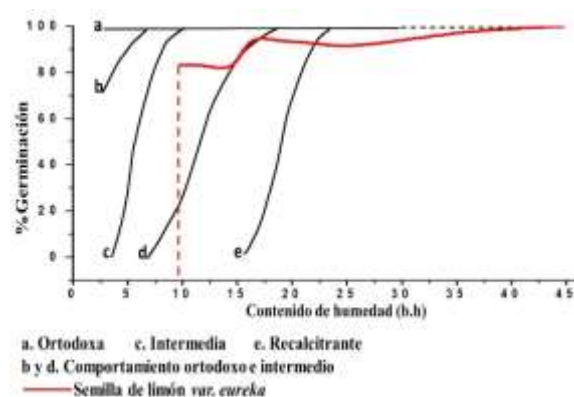


Figura 11. Comportamientos típicos de tolerancia a la desecación para semillas (adaptado de protocolos FAO (2014) con modificaciones).

Para determinar si el comportamiento frente a la desecación es ortodoxo, todas las semillas deben germinar sin presentar pérdida de viabilidad a 5% de humedad (b.h); si la mayoría de las semillas toleran la desecación entre 10 y 12.5% de humedad (b.h), pero una mayor desecación reduce la viabilidad, presentan un comportamiento intermedio. Con un comportamiento recalcitrante, la mayoría de las semillas no son viables por desecación a 15-20% de humedad (b.h) (Hong y Ellis, 1996; Zaritzky, 2015).

En la Figura 11 se superpusieron los porcentajes de germinación obtenidos en el presente trabajo versus el contenido de humedad (b.h) para la semilla *Citrus limon* L. Burm *vc. eureka*. En el rango estudiado de desecación, 11 a 85% HR (9.76 a 25.07% de humedad b.h) se observó que las semillas analizadas presentan un posible comportamiento de semillas intermedias.

Para comprobar y garantizar dicha clasificación resulta necesario evaluar el comportamiento de las semillas a valores inferiores al 5% de humedad (b.h), seguido de un almacenamiento en frío a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 3 meses, lo cual se hará en las próximas etapas del trabajo.

4. Conclusiones

Se realizó el análisis del comportamiento de semillas de *Citrus limon* L. Burm *vc. eureka* frente a procesos de deshidratación controlada mediante el estudio de la cinética, propiedades de sorción y el contenido de agua en el equilibrio a 8 condiciones de HR%.

La desecación presentó bajas velocidades, el tiempo de secado si bien se analizó durante 25 días, el período en el cual todas las condiciones han alcanzado el contenido de humedad de equilibrio fue de 18 días.

Las isothermas de sorción de agua se modelaron aplicando 2 modelos (GAB y D'arcy & Watt). El agua de monocapa determinada por GAB fue de 0.08 g de agua/ g b.s. Las pruebas estadísticas y un menor error en los parámetros de regresión, indicaron que la ecuación de D'arcy & Watt presentó mejor concordancia para modelar la isoterma de la sorción.

Mediante el análisis del comportamiento térmico se identificó la transición de fase correspondiente a la fusión de lípidos; dicha transición se superpone con la transición de fusión de agua. Este método permite determinar el contenido de agua congelable de las semillas y su variación frente a los procesos de desecación; el conocimiento de este parámetro es de gran interés para la conservación del germoplasma vegetal en condiciones de criopreservación, ya que la supervivencia dependerá estrictamente de evitar la formación de hielo intracelular.

La transformación de los resultados mediante la aplicación de la función arcoseno y la prueba de χ^2 permitieron realizar el análisis estadístico de los datos de germinación (distribución binomial); ambos métodos arrojaron resultados comparables.

Las semillas presentaron tolerancia a la desecación para las condiciones de HR \geq 54%. Sin embargo hubo diferencias significativas respecto al control en el %G cuando se deshidrataban en un rango de 11 a 33% HR.

Agradecimientos

Se agradece la colaboración a la Ingeniera Fernanda Rivadeneira de la Estación Experimental Agropecuaria del INTA en Concordia, Entre Ríos, por proporcionarnos los frutos de limón *Citrus limon* L. Burm *vc. eureka*.

Los autores agradecen a las siguientes instituciones por su apoyo económico y financiero para el desarrollo del presente trabajo: Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de La Plata, Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA-CONICET-CIC-PBA) y a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCYT)-ARGENTINA.

5. Referencias

AOAC 2010. *Official methods of analysis*. 13th ed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists. 1018.

Banco de germoplasma protegido de citrus y géneros afines, INTA. Accedido el día 16/11/2017. <https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-bancogermcitriscosprotegidodic11web.pdf>

Bueno, M., Alzugaray, C., Giubileo, G., Severin, C., & Carnevale, N. (2009). *Evaluación de la calidad*

fisiológica de semillas de Maytenus vitis-idaea cultivadas in vitro. Bosque (Valdivia), 30(3), 146-150.

Cho, E. G., Noor, N. M., Kim, H. H., Rao, V. R., & Engelmann, F. (2002). *Cryopreservation of Citrus aurantifolia seeds and embryonic axes using a desiccation protocol*. CryoLetters, 23(5), 309-316.

De Carlo, A., Lambardi, M., & Ozudogru, E. A. (2011). *Cryogenic technologies for the long-term storage of Citrus germplasm*. *Plant embryo culture: methods and protocols*, 185-200.

Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. *InfoStat v. 2016*. InfoStat Group, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>

Dussert, S., Chabrillange, N., Engelmann, F., & Hamon, S. (1999). *Quantitative estimation of seed desiccation sensitivity using a quantal response model: application to nine species of the genus Coffea L.* Seed Science Research, 9(2), 135-144.

FAO. (2014). *Normas para bancos de germoplasma de recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura*. Edición revisada. Roma.

FAO 2017. Food and Agricultural Organization of the United Nations. Accedido el día 12/07/2017. <http://www.fao.org/plant-treaty/es/>

Farrant, J. M., Pammenter, N. W., & Berjak, P. (1993). *Seed development in relation to desiccation tolerance: a comparison between desiccation-sensitive (recalcitrant) seeds of Avicennia marina and desiccation-tolerant types*. Seed Science Research, 3(1), 1-13.

Federación de cítricos de Argentina. Disponible en: www.fedecitru.org.

Graiver, N., Califano, A., & Zaritzky, N. (2011). *Partial dehydration and cryopreservation of Citrus seeds*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 91(14), 2544-2550.

Gold, K., & Hay, F. (2008). *Identifying desiccation sensitive seeds*. Technical Information Sheet, 10.

Gold, K., & Hay, F. (2014). *Equilibrating seeds to specific moisture levels*. Technical Information Sheet 09, Royal Botanic Gardens Kew, UK.

Hong, T.D. & R.H. Ellis. (1996). *A protocol to determine seed storage behaviour*. IPGRI Technical

- Bulletin No. 1. (J.M.M. Engels and J. Toll, vol. eds. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- Hamilton, K. N., Ashmore, S. E., & Pritchard, H. W. (2009). *Thermal analysis and cryopreservation of seeds of Australian wild Citrus species (Rutaceae): Citrus australasica, C. inodora and C. garrawayi*. *CryoLetters*, 30(4), 268-279.
- Hong, T. D., & Ellis, R. H. (1996). *A protocol to determine seed storage behaviour (No. 1)*. Bioversity International.
- Kaya, E., Souza, F., Gökdoğan, E. Y., Ceylan, M., & Jenderek, M. (2017). *Cryopreservation of citrus seed via dehydration followed by immersion in liquid nitrogen*. *Turkish Journal of Biology*, 41(1), 242-248.
- King, M. W., & Roberts, E. H. (1980). *The desiccation response of seeds of Citrus limon L*. *Annals of Botany*, 45(4), 489-492.
- Kuehl, R.O. (2001). *Diagnóstico de la concordancia entre los datos y el modelo*. Diseño de experimentos, ed. por Thomson Learning, Inc, Mexico, 123-147.
- Lambardi, M., De Carlo, A., Biricolti, S., Puglia, A. M., Lombardo, G., Siragusa, M., & De Pasquale, F. (2004). *Zygotic and nucellar embryo survival following dehydration/cryopreservation of Citrus intact seeds*. *CryoLetters*, 25(2), 81-90.
- Landa, R. I. (2014). *Análisis de la producción y comercialización del limón en Argentina*. Trabajo Final de Ingeniería en Producción Agropecuaria. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Católica Argentina. Accedido el día 16/11/2017. <http://bibliotecadigital.uca.edu.ar/repositorio/tesis/alisis-produccion-comercializacion-limon.pdf>
- Ledesma, D. A. (1980). *Las muestras de Pearson (Jí cuadrado)*. *Estadística médica*. Editorial Universitaria de Buenos Aires. Argentina. 405-459.
- Lomauro, C. J., Bakshi, A. S., & Labuza, T. P. (1985). *Evaluation of food moisture sorption isotherm equations. Part I: Fruit, vegetable and meat products*. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 18(2), 111-117.
- McDonald, J. H. (2009). *Handbook of biological statistics*. Baltimore, MD: Sparky House Publishing, 2, 173-181
- Rahman, M. S. (2009). *Prediction of ice content in frozen foods*. *Food Properties Handbook*, segunda ed. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 193-206.
- Rao, N. K., Hanson, J. E. A. N., Dulloo, M. E., Ghosh, K. A. K. O. L. I., Nowell, D., & Larinde, M. (2006). *Manual para el manejo de semillas en bancos de germoplasma*.
- Sistema Nacional Argentino de Vigilancia y Monitoreo de plagas (SINAVIMO). Accedido el día 16/11/2017. <http://www.sinavimo.gov.ar/cultivo/citrus-limon>
- Villegas-Monter, A., & Andrade-Rodríguez, M. (2005). *Secado y almacenamiento de semillas de mandarina 'Cleopatra'*. *Pesq. Agropec. Bras*, 40(1), 79-86.
- Walters, C., Wheeler, L., & Stanwood, P. C. (2004). *Longevity of cryogenically stored seeds*. *Cryobiology*, 48(3), 229-244.
- Warton, D. I., & Hui, F. K. (2011). *The arcsine is asinine: the analysis of proportions in ecology*. *Ecology*, 92(1), 3-10.
- Zaritzky, N. E. (2015). *The Role of Water in the Cryopreservation of Seeds*. In *Water Stress in Biological, Chemical, Pharmaceutical and Food Systems*. Springer New York, 231-244.

44TCA. Salado húmedo de merluza: evaluación de aspectos fisicoquímicos y de color, determinación de parámetros cinéticos y coeficientes de transferencia de masa

Hake brine salting: evaluation of physicochemical parameters and color, determination of kinetic parameters and mass transfer coefficients

Marchetti, Marión Daniela^{1,2}; García Loredo, Analía Belén^{1,2}; Yeannes, María Isabel^{1,2}

1. Grupo de Investigación Preservación y Calidad de Alimentos (GIPCAL). Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Mar del Plata. J. B. Justo 4302, 7600 Mar del Plata, Argentina. 2. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas CONICET, Argentina.

E-mail: marion_9105@hotmail.com

Resumen

El salado es un método de conservación aplicado al pescado desde 3500 ó 4000 años a.C. Los productos obtenidos mediante esta tecnología son muy apreciados en diversos países y el factor de conservación está dado por su actividad de agua (a_w) reducida y alta concentración de sal. Se caracterizó la merluza (*Merluccius hubbsi*) y se estudió el proceso de salado y las variables que lo gobiernan. Para ello, se realizó un salado húmedo fuerte (30% NaCl) a trozos de filetes a 4,5°C, relación pescado:salmuera 1:5 y se extrajeron muestras a distintos tiempos de proceso durante 24 hs. Se realizaron análisis de contenido de humedad, NaCl, a_w y color. El salado redujo el contenido de humedad y a_w , hasta 68,16% y 0,813 respectivamente, mientras que el tenor salino alcanzó un 16,53%. Se registró una leve pérdida de lípidos hacia la salmuera, descenso del valor de pH y disminución de la luminosidad debida a la deshidratación osmótica. Los modelos de Peleg ($R^2 > 0,8612$) y Zugarramurdi & Lupín ($R^2 > 0,8286$) explican satisfactoriamente la cinética de transferencia de agua y NaCl durante el salado. Los valores de $D_{NaCl} = 3,00 \times 10^{-10}$ (m^2/s) y $D_{agua} = 3,75 \times 10^{-10}$ (m^2/s) hallados permitirán llevar a cabo el diseño del proceso y optimizar tiempos de salado.

Palabras claves: salado, *Merluccius hubbsi*, deshidratación osmótica, difusividad.

Summary

Salting is a conservation method applied to fish from 3500 or 4000 b.C. The products selected by this technology are highly appreciated in various countries and the conservation factor is given by its reduced water activity (a_w) and its high salt concentration. In this work, hake (*Merluccius hubbsi*) was characterized and the brine salting process and the variables that govern it were studied. A strong salty (30% p/v NaCl) was made at 4.5 ° C, fish ratio: brine 1: 5 and samples were taken at different times for 24 hours. Analysis of moisture content, NaCl, a_w and color were carried out. The brine salting reduced the moisture content (68.16%) and a_w (0.813), while that the salt content reached 16.53%. There was a slight loss of lipids towards the brine, a decrease in pH value and luminosity due to osmotic dehydration. The Peleg ($R^2 > 0.8612$) and Zugarramurdi & Lupín ($R^2 > 0.8286$) models satisfactorily explained the transfer kinetics of water and NaCl during salting. The calculated diffusivity coefficients ($D_{NaCl} = 3.00 \times 10^{-10}$ (m^2 / s) and $D_{water} = 3.75 \times 10^{-10}$ (m^2 / s)) together with the parameters of the models will allow to optimize the design of process and salting times.

Key words: salty, *Merluccius hubbsi*, osmotic dehydration, diffusivity.

1. Introducción

El salado es un método de conservación aplicado al pescado desde tiempos antiguos, existiendo evidencias de su uso desde 3500 ó 4000 años a.C. Los productos obtenidos mediante esta tecnología son muy apreciados en diversos países, fundamentalmente de Europa, África, Asia,

América del Sur y Central. El bacalao salado es el producto más conocido de este tipo, elaborado tradicionalmente en países europeos y que posee una gran aceptación a nivel mundial (Oliveira y col., 2012). En Latinoamérica, existen algunos antecedentes de elaboración de productos análogos a partir de otras especies magras, debido a que la especie bacalao no se encuentra disponible en el

océano Atlántico Sudoccidental (Lupín, 1978 y 1980). Este tipo de productos es de gran interés económico debido al poco consumo energético del proceso y bajo costo de elaboración y también por sus características sensoriales y nutricionales (Andrés y col. 2005b; Barat y col., 2004, Oliveira y col., 2012). El salado es un método de preservación basado en la penetración de sal en el músculo del pescado. Este fenómeno se encuentra gobernado por procesos físicos, tales como la difusión y ósmosis, y también por una serie de complejos procesos químicos y bioquímicos asociados a los cambios que se producen en los constituyentes del músculo por acción de la sal (Barat y col., 2004, Andrés y col., 2005a). Dado que la sal utilizada no contiene nitratos y/o nitritos como los productos “curados”, los obtenidos mediante esta tecnología son denominados “preservas”, donde el factor de conservación está dado por su actividad de agua reducida ($\sim 0,75$) y su alta concentración de sal (14-21%). En este contexto, en el presente trabajo se plantea caracterizar fisicoquímicamente la materia prima a utilizar y estudiar el proceso de salado y las variables que lo gobiernan evaluando parámetros fisicoquímicos y el color.

2. Materiales y métodos

Muestra

Se trabajó con filetes de merluza (*Merluccius hubbsi*) frescos sin piel, los cuales fueron revisados por una pescadería ubicada en la ciudad de Mar del Plata y se mantuvieron en refrigeración hasta el momento del procesamiento. Los filetes se obtuvieron de forma manual y éstos se cortaron en trozos de 20 gr que fueron usados en el proceso de salado.

Salado

La solución deshidratante se preparó mediante la mezcla de sal entrefina de calidad comercial (CELUSAL, Buenos Aires, Argentina) con agua corriente en una concentración del 30%. La relación pescado:salmuera fue 1:5 y el proceso se llevó a cabo a una temperatura de $4,5 \pm 1,3$ °C. Se tomaron muestras durante 10 tiempos hasta alcanzar las 24 h de proceso (0; 0,33; 0,83; 1,67; 2,67; 3,67; 4,67; 5,67; 7,67; 21,67 y 24 hs).

Diseño experimental

Los trozos de merluza presentaron diferencias en el espesor según la parte del filete de la cual provenía el corte, por lo que se realizó una división entre cabeza, centro y cola, con espesores de $8,5 \pm 0,8$ mm, $10,5 \pm 1,7$ mm y $8,2 \pm 1,3$ mm respectivamente. Para cada tiempo se tomó una muestra de cada parte, se escurrieron, se pesaron para evaluar la

diferencia de peso con respecto al inicial y se sometieron a un picado/homogeneizado con procesadora (MOULINEX, Buenos Aires, Argentina).

Cuando se detectaron diferencias significativas entre las medias, éstas fueron comparadas utilizando la prueba de ANOVA de un factor mediante la Interfaz Gráfica de Usuario R-Commander del Software R versión 3.4.0 (Auckland, Nueva Zelanda), con un nivel de significación de $p < 0,01$.

Caracterización fisicoquímica de la materia prima

La caracterización de la materia prima se llevó a cabo a partir de la determinación de la composición química proximal (CQP), contenido de sal, pH, color instrumental y como indicador de deterioro Nitrógeno Básico Volátil Total (NBVT).

Contenido de agua: se realizó secado en estufa a 105 ± 2 °C de 3 g de muestra hasta peso constante (AOAC, 1990. Sec 984.25).

Contenido de cenizas: a partir de la calcinación del residuo seco en mufla a 500 ± 5 °C hasta cenizas blancas (8 horas). (AOAC, 1993. Sec. 945.46).

Determinación de NaCl: mediante la técnica de Mohr (Kirk et al., 1996). El contenido de NaCl se determinó a partir de las cenizas, las cuales se disolvieron en matraz de 100 ml con agua destilada y se titularon con una solución normalizada de AgNO_3 , utilizando como indicador una solución de K_2CrO_4 (5% p/v).

Contenido de lípidos totales: mediante el método de hidrólisis ácida (AOAC, 1990. Sec 922.06).

Determinación de pH: se determinó utilizando un pH-metro (HANNA, Woonsocket, USA). Se realizaron las mediciones en una mezcla de partes iguales de muestra homogeneizada y agua destilada, hasta obtener una lectura estable en el instrumento.

Nitrógeno básico volátil total (NBVT): se determinó utilizando la técnica de Giannini et al. (1979). Se pesaron 10 g de muestra que se colocaron en un balón de destilación con 300 ml de agua destilada y 1,5 g de óxido de magnesio. Se destilaron las bases nitrogenadas liberadas hacia una solución de ácido bórico al 3%, hasta completar un volumen de 230 ml en un vaso colector. El destilado se tituló con solución de ácido sulfúrico normalizada.

Actividad de agua: mediante un higrómetro digital Aqualab, modelo CX-2T (Decagon®, Pulman, Estados Unidos).

Determinación de color: las mediciones de color se realizaron sobre la superficie de los trozos de filete utilizando un colorímetro portátil (Lovibond, SP60, Reino Unido), con un iluminante D65 y observador de 10° como referencia y bajo la escala de color CieLab. En este espacio de color, L* es un indicador de la luminosidad que varía entre el color negro (-100) y blanco (+100), a* indica la cromaticidad en el eje del color verde (-60) hasta el rojo (+60), y b* la cromaticidad en el eje azul (-60) a amarillo (+60).

Todas las determinaciones previas fueron realizadas por triplicado.

Determinaciones a lo largo del proceso de salado

Para evaluar los cambios que el salado provocó sobre los filetes de merluza, se realizaron análisis de contenido de humedad, cenizas, NaCl, actividad de agua y color para las muestras tomadas en cada tiempo de proceso. Dichas determinaciones se llevaron a cabo de acuerdo a las metodologías descritas en la sección anterior. El contenido de lípidos totales y pH se determinó en la muestra fresca y al final del proceso de salado.

Modelos matemáticos

Los modelos matemáticos permiten obtener parámetros característicos del proceso de salado y predecir la cinética para distintas condiciones experimentales, determinando velocidades de transferencia de masa y contenido de agua y sal en la muestra (Ochoa Martínez, 2005; Casales y Yeannes, 2016). La obtención de los parámetros cinéticos permitirá llevar a cabo el diseño del proceso, optimizar el tiempo de salado y minimizar la generación de salmuera residual. En este caso, se utilizaron dos modelos empíricos o semiempíricos sencillos, que se han empleado en bibliografía para describir procesos similares: el modelo de Peleg (1988) y el modelo de Zugarramurdi y Lupín (1977,1980). Los parámetros de los modelos para cada una de las condiciones experimentales fueron obtenidos por regresión no lineal, utilizando el software OriginPro 8 (OriginLab Corporation, Northampton, Estados Unidos).

El modelo de Peleg se detalla en las Ecuaciones 1, 2 y 3.

$$x_t = \frac{t}{K_1 + K_2 t} \quad \text{Ecuación (1)}$$

Donde x_t representa la pérdida de agua o la ganancia de solutos, K_1 [h (g/g ms)] es la constante de velocidad de Peleg relacionada con el tasa de transferencia de masa al comienzo del proceso en $x_t = x_0$ y K_2 (g/g ms) es la constante de capacidad relacionada con el equilibrio agua y contenido de soluto en el tiempo $t \rightarrow \infty$.

$$\frac{\partial x_t}{\partial t} = \frac{1}{K_1} \quad \text{Ecuación (2)}$$

$$x_{eq} = \frac{1}{K_2} \quad \text{Ecuación (3)}$$

Zugarramurdi y Lupín propusieron un modelo exponencial para los valores de equilibrio sal y agua (Ecuación 4).

$$\frac{dx_t}{dt} = K(x_{eq} - x_t) \quad \text{Ecuación (4)}$$

Donde x_t y x_{eq} son la pérdida de agua o la ganancia de solutos (g/g ms) en el tiempo t (h) y en el equilibrio, respectivamente; y K (h^{-1}) es la constante de velocidad específica. Integrando la Ecuación 4 con la condición inicial $x_{t=0} = x_0$ se puede obtener la siguiente expresión:

$$x_t = x_0 e^{-Kt} + x_{eq} (1 - e^{-Kt}) \quad \text{Ecuación (5)}$$

Variaciones de masa total, agua y NaCl

Para estimar las variaciones de masa total, agua y NaCl durante el proceso de salado se emplearon las Ecuaciones 6, 7 y 8:

$$\Delta M_T = \frac{(M_t^0 - M_0^0)}{M_0^0} \quad \text{Ecuación (6)}$$

$$\Delta M_w = \frac{(M_t^0 x_t^w - M_0^0 x_0^w)}{M_0^0} \quad \text{Ecuación (7)}$$

$$\Delta M_{NaCl} = \frac{(M_t^0 x_t^{NaCl} - M_0^0 x_0^{NaCl})}{M_0^0} \quad \text{Ecuación (8)}$$

Donde:

M_t^0 : masa de muestra a tiempo t (g)

M_0^0 : masa inicial de muestra (g)

x_t^w : fracción másica de agua a tiempo t (g agua/g muestra)

x_0^w : fracción másica de agua inicial (g agua/ g muestra)

x_t^{NaCl} : fracción másica de cloruro de sodio a tiempo t (g NaCl/ g muestra)

x_0^{NaCl} : fracción masica de cloruro de sodio inicial (g NaCl/ g muestra).

Asimismo, se calculó la concentración de NaCl en fase líquida con la Ecuación (9):

$$Z_{NaCl} = \frac{X_{NaCl}}{X_w + X_{NaCl}} \quad \text{Ecuación (9)}$$

X_{NaCl} : fracción másica de cloruro sódico

X_w : fracción másica de agua

Determinación de parámetros de transferencia de masa

La ecuación que relaciona la concentración como una función del tiempo y la posición para una placa infinita (Ecuación 11) se obtiene resolviendo la Ecuación diferencial 10 con las siguientes condiciones de contorno.

$$\frac{\partial C}{\partial x} \Big|_{x=0} = 0 \quad -D \frac{\partial C}{\partial x} \Big|_{x=L} = k_c (C \Big|_{x=L} - C_{\infty}) \quad C \Big|_{t=0} = C_i$$

Condiciones de contorno

$$\frac{\partial^2 C}{\partial x^2} = \frac{1}{D} \frac{\partial C}{\partial t}, \quad 0 \leq x \leq L \text{ para } t > 0$$

Ecuación (10)

$$\frac{C(x,t) - C_{\infty}}{C_i - C_{\infty}} = \frac{2 \operatorname{sen} \mu_n}{\mu_n + \operatorname{sen} \mu_n \cos \mu_n} \cos\left(\mu_n \frac{x}{L}\right) \exp\left(-\mu_n^2 \frac{Dt}{L^2}\right)$$

Ecuación (11)

Tomando sólo el primer término de la serie infinita de la Ecuación 11 (para largos tiempos de procesamiento) e integrando a lo largo de todo el volumen $\left(\frac{1}{V} \int_0^V C(x,t) dV\right)$, la ecuación para la concentración promedio en una placa infinita se detalla en la Ecuación 12.

$$\frac{C^*(x,t) - C_{\infty}}{C_i - C_{\infty}} = \frac{2 \operatorname{sen}^2 \mu_1}{\mu_1 [\mu_1 + \operatorname{sen} \mu_1 \cos \mu_1]} \exp\left(-\mu_1^2 \frac{Dt}{L^2}\right)$$

Ecuación (12)

Donde $C^*(x,t)$ es la concentración promedio en un momento dado en kg / kg de muestra seca. Se utilizó la regla de superposición de tres placas infinitas para obtener la concentración promedio para el caso de un paralelepípedo (Ecuación 13).

$$\ln\left(\frac{C^*(x,t) - C_{\infty}}{C_i - C_{\infty}}\right) = 2 \ln E - 2 \mu_1^2 \frac{Dt}{L^2}$$

Ecuación (13)

Donde E se define de la siguiente manera:

$$E = \frac{2 \operatorname{sen}^2 \mu_1}{\mu_1 [\mu_1 + \operatorname{sen} \mu_1 \cos \mu_1]} \quad \text{Ecuación (14)}$$

A partir de la ordenada al origen de la recta $\ln\left(\frac{C^*(x,t) - C_{\infty}}{C_i - C_{\infty}}\right)$ vs. t se obtuvo la primera raíz de ecuación característica (μ_1), mientras que a partir del valor de la pendiente se determinó la difusividad (D) para humedad y NaCl. El coeficiente de transferencia de masa (k_c) se obtuvo según la Ecuación 15.

$$Bi = \mu_1 \tan \mu_1 = \frac{k_c L}{D} \quad \text{Ecuación (15)}$$

Donde Bi es el número de Biot para transferencia de masa y L el semiespesor. (Aygun Yildiz y col., 2007).

3. Resultados y Discusión

Caracterización de la materia prima

En la Tabla 1 se detalla la caracterización de la merluza fresca.

Tabla 9. Caracterización de la materia prima

Filete de merluza fresco	
pH	7,01±0,01
NBV (mg/100g)	29,41±0,01
Humedad (g/gms)	4,21±0,15
Actividad de agua	0,998 ± 0,008
Cloruros (g/gms)	0,013±0,001
Lípidos (g/g)	0,026 ± 0,009

Del análisis fisicoquímico que se muestra en la Tabla 1, se destaca la elevada actividad de agua, siendo el pescado fresco uno de los alimentos más susceptibles al desarrollo microbiano y de conservación muy delicada. Por otro lado, el bajo contenido de lípidos ubica a la merluza dentro de los pescados magros ya que, en líneas generales, los pescados blancos son los que contienen menos de 2,5% de grasa (Piñeiro Corrales y col., 2013).

Contenido de humedad

En las Figuras 1a y 1b se muestra la variación del contenido de humedad de los trozos de merluza según la posición en el filete (cabeza, centro, cola) expresado en base seca y base húmeda, respectivamente, para distintos tiempo de salado, mientras que en la Figura 1c se muestra el ajuste obtenido para el modelo de Peleg y Zugarra y Lupin, para los resultados expresados en base seca. En la tabla 2 se presentan los valores obtenidos para los parámetros de dichos modelos a partir del ajuste de los datos experimentales.

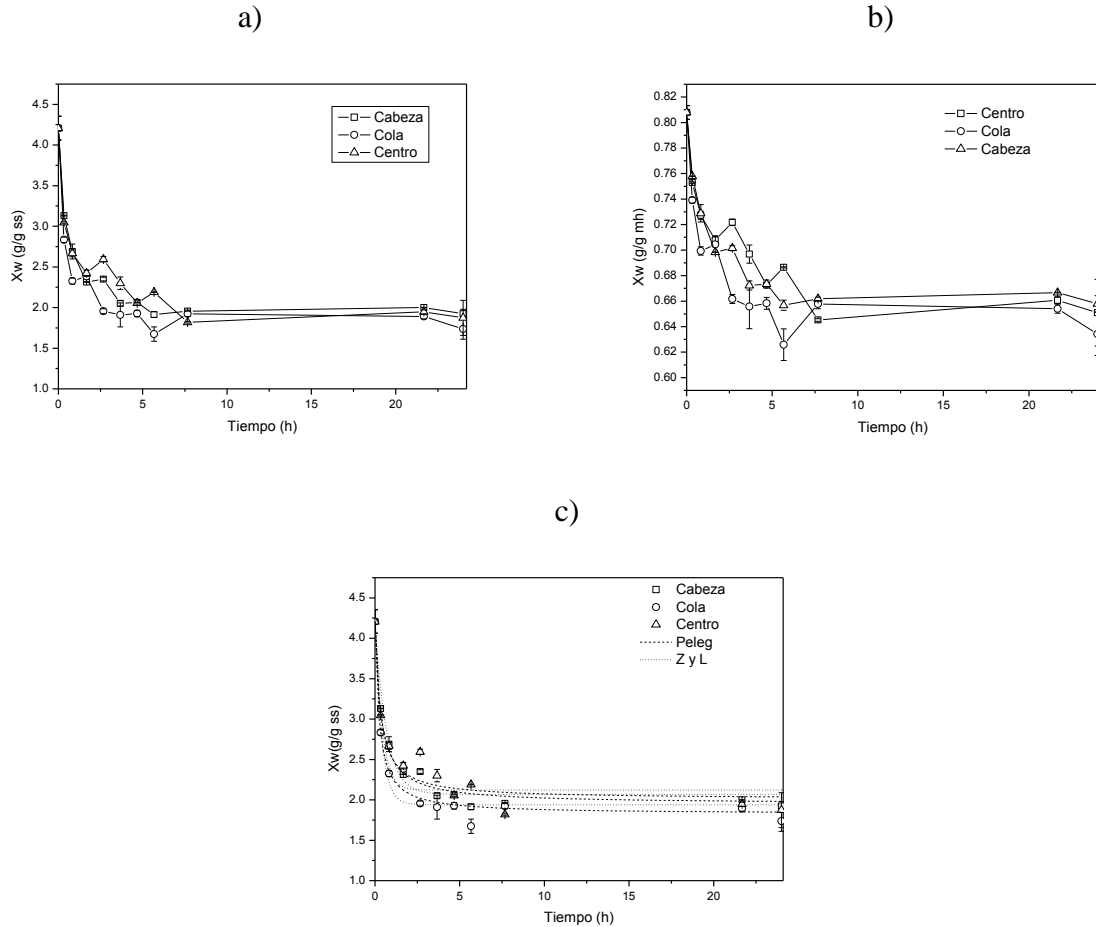


Figura 1. Variación del contenido de humedad en función del tiempo de salado, a) expresado en base seca (g agua/ g ms), b) expresado en base húmeda (g agua/ g mh), c) Ajuste obtenido por el modelo de Peleg y Zugarramurdi y Lupín, expresado en base seca (g agua/ g ms).

Tabla 2. Parámetros del Modelo de Peleg y Zugarramurdi y Lupín para transferencia de agua durante el salado de filete de merluza.

	Peleg			Zugarramurdi y Lupín		
	K_1^w (h(g _{agua} /g _{ms}) ⁻¹)	K_2^w (g _{agua} /g _{ms}) ⁻¹	R ²	X_{eq}^w (g _{agua} /g _{ms})	K^w (h ⁻¹)	R ²
Cabeza	0,149±0,005	0,443±0,003	0,9941	2,07±0,05	1,49±0,19	0,8863
Cola	0,13±0,01	0,420±0,006	0,9612	1,94±0,04	2,54±0,26	0,9169
Centro	0,10±0,03	0,45±0,01	0,8612	2,12±0,05	2,43±0,41	0,8286

La pérdida de humedad es un importante fenómeno de transporte de masa durante el salado. La tasa de este proceso está directamente relacionada con el tiempo de exposición de la muestra (Nasiri et al., 2011).

En las Figuras 1a y 1b, se observa que el contenido de humedad descendió durante todo el proceso de salado. La curva presentó una rápida disminución de humedad en los primeros minutos, como fue informado por otros autores para productos cárnicos (Palou et al., 1993; López y Dávila, 2005). Se observa que, luego de 6h de salado, el contenido de humedad tiende a mantener una concentración prácticamente constante en la muestra hasta el final

del proceso, alcanzando una concentración de 68,16% (expresado en base húmeda) para el centro del filete. Se encontraron diferencias significativas ($F_{2,12}=18,75$; $p<0,01$) en los contenidos de humedad de equilibrio hallados con los diferentes modelos entre las tres secciones del filete.

Los valores de R² obtenidos para el modelo de Peleg y Zugarramurdi y Lupín, indican que ambos permiten explicar satisfactoriamente la cinética de transferencia de agua durante el salado de filetes de merluza. En todos los casos, se obtuvieron valores de R² superiores para el ajuste propuesto por Peleg en comparación con el de Zugarramurdi y Lupín (Tabla 2).

Contenido de NaCl

En las Figuras 2a y 2b se muestra la variación del contenido de cloruros de los trozos de merluza según la posición en el filete (cabeza, centro, cola) expresado en base seca y base húmeda, respectivamente, para distintos tiempo de salado,

mientras que en la Figura 2c se muestra el ajuste obtenido para el modelo de Peleg y Zugarramurdi y Lupín, para los resultados expresados en base seca. En la Tabla 3 se presentan los valores obtenidos para las constantes de dichos modelos a partir del ajuste de los datos experimentales.

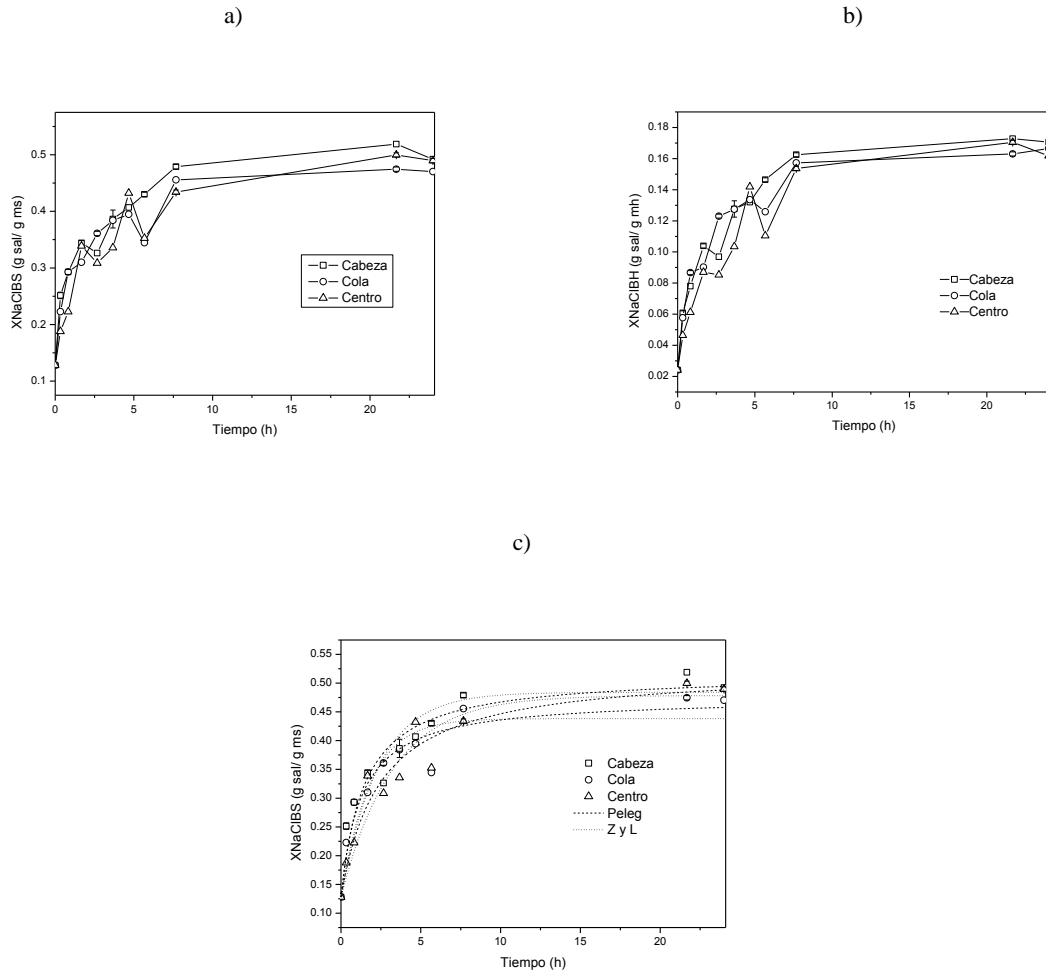


Figura 2. Variación del contenido de NaCl en función del tiempo de salado, a) expresado en base seca (g agua/ g ms), b) expresado en base húmeda (g agua/ g mh), c) Ajuste obtenido por el modelo de Peleg y Zugarramurdi y Lupín, expresado en base seca (g agua/ g ms).

Tabla 3. Parámetros del Modelo de Peleg y Zugarramurdi y Lupín para transferencia de sal durante el salado de filete de merluza. Datos de composición vs. tiempo expresados sobre base seca (g/g muestra seca).

	Peleg			Zugarramurdi y Lupín		
	K_1^s (h(g _{NaCl} /g _{ms}) ⁻¹)	K_2^s (g _{NaCl} /g _{ms}) ⁻¹	R ²	X_{eq}^s (g _{NaCl} /g _{ms})	K^s (h ⁻¹)	R ²
Cabeza	3,8±0,7	2,57±0,15	0,9329	0,48±0,02	0,43±0,09	0,8717
Cola	3,7±0,8	2,88±0,17	0,9274	0,44±0,02	0,55±0,14	0,8612
Centro	6,2±1,2	2,52±0,19	0,9305	0,48±0,02	0,31±0,06	0,9008

De las Figuras 2a y 2b se desprende que el contenido de NaCl aumentó durante todo el proceso de salado. Se observa que el filete gana

rápido sólidos cuando los tiempos de salado son pequeños, por lo cual la mayor cinética de transferencia se da al inicio del proceso.

De las figuras 1a y 2a se desprende que el contenido de NaCl fue inversamente proporcional al contenido de humedad, tal como lo reportan otros autores (Sánchez y Lam, 1965; Mendieta y Medina, 1993; Fito et al., 1998; Larrazábal et al., 2010). Se observa que luego de 8h de salado, el NaCl tiende a mantener una concentración prácticamente constante en la muestra hasta el final del proceso, alcanzando una concentración de 16,53% (expresado en base húmeda) en el centro de los filetes. Esto concuerda con lo informado por diferentes investigadores que trabajaron en salado de pescado (Sánchez y Lam, 1965; Mendieta y Medina, 1993; Fito et al., 1998; Bolin et al. 1983), los mismos señalan que esto puede deberse a que luego de la cinética de mayor transferencia no hay una abundante migración de soluto hacia las células durante el salado, sino que permanecen los sólidos entre los espacios intercelulares, disminuyendo la ganancia de solutos. Se encontraron diferencias significativas ($F_{2,12}=11,54$; $p<0,01$) entre los contenidos de NaCl de equilibrio hallados por los distintos modelos en la sección de la cola con respecto al centro y cabeza del filete. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre el centro y cabeza.

Los valores de R^2 obtenidos para el modelo de Peleg y Zugarramurdi y Lupín, indican que ambos permiten explicar satisfactoriamente la cinética de transferencia de sal durante el salado de filetes de merluza. En todos los casos, se obtuvieron valores de R^2 superiores para el ajuste propuesto por Peleg en comparación con el de Zugarramurdi y Lupín (Tabla 3).

Variaciones de masa total, agua y cloruro sódico

En la Figura 3 se muestra la evolución de masa total (ΔM_T), masa de agua (ΔM_w) y masa de cloruro de sodio (ΔM_{NaCl}) frente a la raíz cuadrada del tiempo de procesado ($t^{0,5}$) en el centro de filetes de merluza durante el periodo de tiempo de salado donde se observaron variaciones en los contenidos. El mismo patrón se encontró en cola y cabeza de los filetes. La Tabla 3 muestra las ecuaciones lineales de los modelos ΔM_T , ΔM_w y ΔM_{NaCl} con los valores de R^2 .

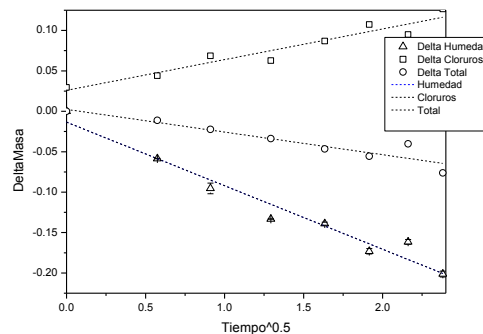


Figura 3. Variación de masa total (ΔM_T), variación de masa de agua (ΔM_w) y variación de masa de cloruro de sodio (ΔM_{NaCl}) frente a la raíz cuadrada del tiempo de procesado ($t^{0,5}$) en el centro de filetes de merluza.

Tabla 4. Parámetros modelo ajuste lineal para ΔM_T , ΔM_w y ΔM_s en función de la raíz cuadrada del tiempo.

	Pendiente	Ordenada	R^2
ΔM_w	$-0,079 \pm 0,006$	$-0,013 \pm 0,010$	0,9547
ΔM_{NaCl}	$0,038 \pm 0,004$	$0,026 \pm 0,007$	0,9073
ΔM_T	$-0,028 \pm 0,004$	$0,002 \pm 0,007$	0,8605

ΔM_w y ΔM_{NaCl} exhiben líneas opuestas y ΔM_T presenta valores como una combinación de ambos cambios de peso mencionados, tal como lo reportan Aliño y col. (2009) para salado de carne de cerdo. La pendiente de las rectas representa la tasa de cambio a lo largo del periodo de salado, mientras que la ordenada representa los cambios sufridos por los filetes al comienzo del proceso. Se observa en la tabla 4 altos valores de R^2 , lo cual indica la correlatividad de los resultados. Se puede asumir que se produce un transporte pseudo-difusional debido a la fuerte dependencia de las variaciones de masa con la raíz cuadrada del tiempo, tal y como ha sido expuesto por otros autores (Barat et al., 2006; Fuentes et al., 2008; Gallart-Jornet et al., 2007; Peppas y Brannon-Peppas, 1994).

Determinación de parámetros de transferencia de masa

Los coeficiente de transferencia de masa efectiva y difusividad de humedad y NaCl se determinaron a partir de las pendientes de los gráficos que vinculan la relación de concentración adimensional en función del tiempo de proceso (Figuras 4 y 5).

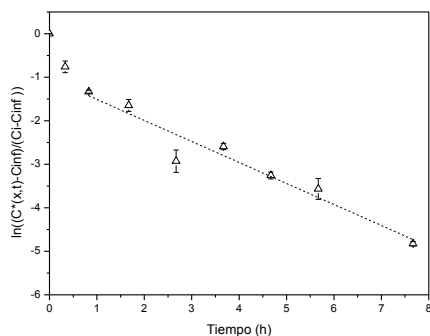


Figura 4. Relación de concentración de humedad adimensional en función del tiempo de proceso.

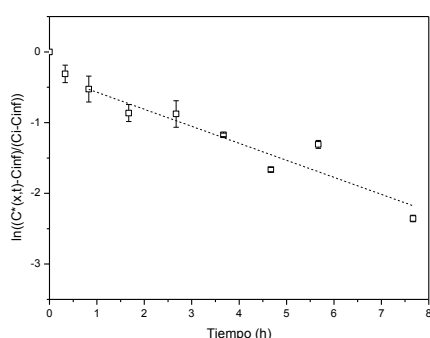


Figura 5. Relación de concentración de NaCl adimensional en función del tiempo de proceso.

La sección lineal de las Figuras 4 y 5, se utilizaron para determinar los parámetros de transferencia de masa (Tabla 5).

Tabla 5. Número de Biot y valores de parámetros de transferencia de masa para humedad y NaCl

	Bi	Coefficiente de transferencia de masa $k_c \times 10^7$ (m/s)	Difusividad $D \times 10^{10}$ (m ² /s)
Humedad	5,7	4,8	3,7
NaCl	19,0	0,13	3,0

Como se puede ver en la Tabla 5, la velocidad de pérdida de humedad para salado de trozos de filetes de merluza es superior a la encontrada para ganancia de NaCl, lo cual concuerda con lo mencionado en secciones anteriores donde el contenido de humedad de equilibrio se alcanza a un menor tiempo de proceso con respecto al contenido de NaCl. Los valores de la difusividad de NaCl en pescado dependen de la especie, la temperatura de proceso, la orientación del músculo, el contenido de grasa, la presencia o ausencia de piel, entre otros factores (Zugarramurdi y Lupín, 1980; Collignan y col., 2001). Los valores de D_{NaCl} y D_{agua} para los trozos de filete de merluza están en concordancia con los resultados reportados por Uribe y col. (2011) en calamar deshidratado osmóticamente a

temperaturas entre 75 y 95°C. Sin embargo, valores mas bajos de D_{NaCl} fueron reportados durante la DO de salmón del Atlántico (Wang y col., 2000) y más elevados para salado húmedo de arenca a 10, 15 y 20% p/v (Tirado y col., 2015).

Actividad de agua

En la figura 6 se observa la correlación entre la a_w y la concentración de NaCl en la fase líquida del filete de merluza, similar a la descrita por otros autores (Lupín y col., 1981). En la tabla 6 se presentan los valores de la ecuación lineal del ajuste y el valor de R^2 .

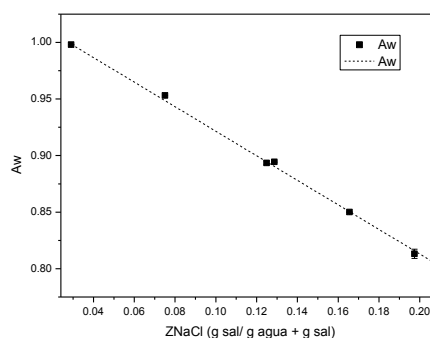


Figura 6. Valores de a_w frente a concentración de sal en la fase líquida del filete de merluza (Z_{NaCl} , g sal/ g sal + g agua).

Tabla 6. Parámetros modelo ajuste lineal a_w vs. Z_{NaCl} .

Pendiente	Ordenada	R^2
-1,085±0,009	1,030±0,001	0,9996

El alto valor de a_w en la merluza fresca indica la elevada susceptibilidad de este tipo de productos al deterioro microbiano, como sucede en muchas otras especies de pescado (Fernández-Salguero et al., 1993). Como se esperaba, el proceso de salado provocó una reducción significativa en el contenido de humedad, un aumento en la concentración de NaCl y en consecuencia, una importante disminución en el valor de a_w , comparado con la merluza fresca. Estos cambios son debidos a la absorción de NaCl y deshidratación que se produce en el músculo. Luego de 8 hs de proceso, se alcanzó un valor de a_w de 0,813 en la zona dorsal anterior de los filetes. En la tabla 6 se observa una buena correlación entre la a_w y la concentración de NaCl en la fase líquida de los filetes (Gallart-Jornet et al., 2007).

Color

En las Figura 7, se observan las coordenadas de color L^* , a^* y b^* en función del tiempo de salado para filetes de merluza.

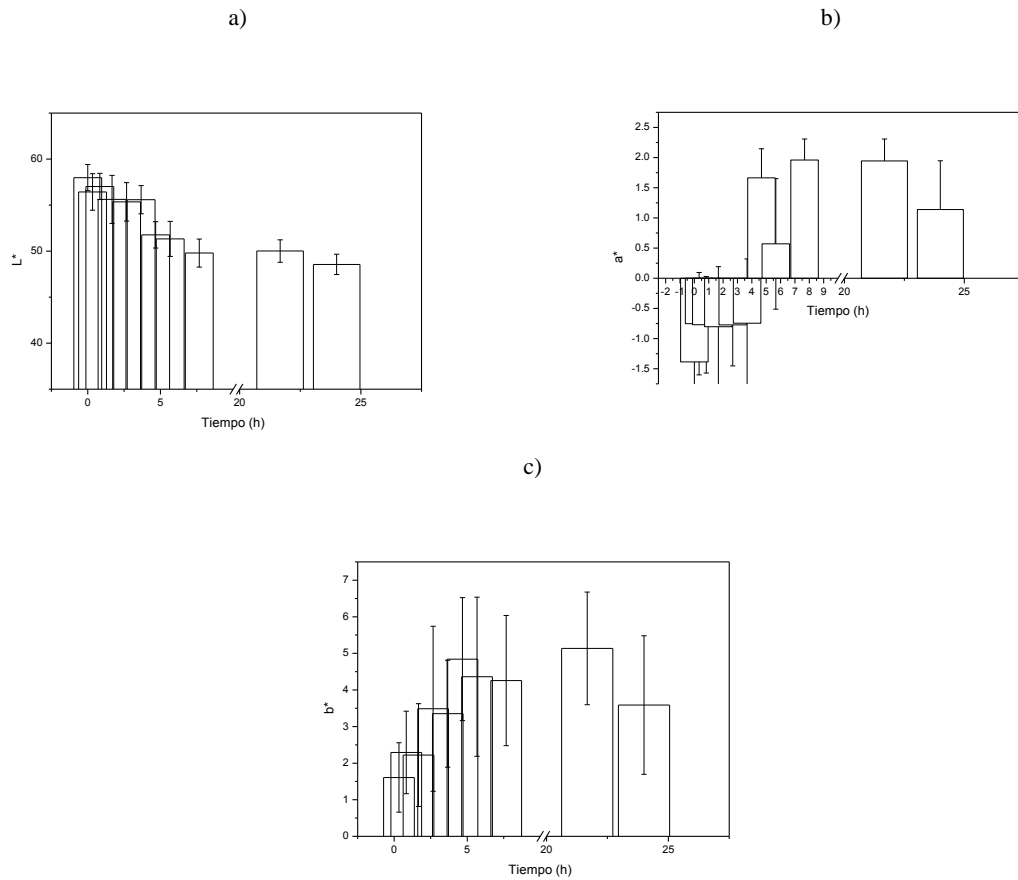


Figura 7. Parámetros de color para muestras de merluza en función del tiempo de salado, a) Luminosidad, b) Parámetro a^* , c) Parámetro b^* .

Respecto a los valores obtenidos para los parámetros de color, se puede observar en la Figura 7a, que los filetes de merluza mostraron menores valores de L^* a medida que se incrementó el tiempo de salado. La disminución de la luminosidad sería debida a la deshidratación y a la desnaturalización proteica que sufre el pescado durante el salado, lo que se traduce en una mayor opacidad de las muestras, tal y como se ha observado en otros estudios de pescado (Birkeland et al., 2004; Cardinal et al., 2001; Fuentes et al., 2012). Tras el procesado se observó un incremento en los valores de a^* y b^* (Figuras 7b y 7c), lo cual también puede deberse a la deshidratación, que provoca la aparición de tonos amarillentos en el pescado de carne blanca como ha sido señalado por otros autores (Fuentes et al., 2007; Oliveira et al., 2012).

Variación de pH

Se determinó el valor de pH de la muestra fresca, luego de 4,67 h de salado y al final del proceso (Tabla 7). Se encontró un leve descenso con respecto al valor inicial, el cual estaría relacionado con la adición de la sal que provocó un aumento en la fuerza iónica de la solución interna de las células del músculo de pescado, tal como lo describió Leroi y Joffraud (2000).

Tabla 7. Valores de pH obtenidos en filetes de merluza a distintos tiempos de salado

Tiempo de salado (h)	pH
0	7,01±0,01

4,67	6,39±0,01
24	6,44±0,01

Contenido de lípidos

Con el fin de evaluar la retención de macronutrientes de interés comercial, se determinó el contenido de lípidos al final del proceso de salado, encontrando que una proporción muy leve (7,69%) estaría pasando hacia la salmuera. Luego de 24 h de salado se encontró que el contenido de lípidos es de $0,024 \pm 0,008$ (g grasa/g muestra), siendo el valor inicial $0,026 \pm 0,009$ (g grasa/g muestra).

4. Conclusión

De acuerdo a los resultados obtenidos, el proceso de salado provocó una reducción del contenido de agua, un aumento de la concentración de sal y una reducción importante de la a_w respecto al pescado fresco, alcanzando valores finales en el centro de los filetes de 68,16%, 16,53% y 0,813 respectivamente. Este descenso de los valores de a_w es lo que permite prolongar la vida útil del producto salado. Las cinéticas de transferencia de agua y sal fueron adecuadamente descriptas por los modelos de Peleg y de Zugarramurdi y Lupín ($R^2 > 0,8286$). Se encontraron diferencias significativas ($p < 0,01$) entre los contenidos de humedad y NaCl de equilibrio hallados con los diferentes modelos para las distintas secciones del filete. Los valores de los coeficientes de transferencia de masa encontrados en el presente trabajo para trozos de filete de merluza son similares a los reportados por otros autores. Por su parte, se encontró que la a_w frente a la concentración de sal en la fase líquida de los filetes de merluza describe una relación lineal ($R^2 = 0,9996$), como así también altos valores de R^2 ($R^2 > 0,8605$), indican correlatividad entre ΔM_T , ΔM_w y ΔM_s , frente a la raíz cuadrada del tiempo de procesado. Se registró una leve pérdida de lípidos hacia la salmuera, descenso del valor de pH y disminución de la luminosidad e incremento de los parámetros a^* y b^* debido a la adición de la sal que provoca un aumento en la fuerza iónica de la solución interna de las células del músculo de pescado.

5. Referencias

Aliño, M; Grau, R, Baigts y Barat, J. 2009. *Influencia de la sustitución del sodio en la cinética del salado de carne de cerdo*. Dpto de Tecnología de Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n. 46022, Valencia, España. Journal of Food Engineering.

Andrés A, Rodríguez-Barona, S, Barat, JM. (2005a). *Analysis of some cod-desalting process variables*. Journal of Food Engineering 70: 67–72.

Andrés A, Rodríguez-Barona, S, Barat, JM, Fito P. (2005b). *Salted cod manufacturing: influence of salting procedure on process yield and product characteristics*. Journal of Food Engineering 69: 467–471.

AOAC. (1990). *Official methods of analysis (15th Ed.)*. Association of Official Analytical Chemists. Washington DC.

AOAC. (1993). *Official methods of analysis (16th Ed.)*. Association of Official Analytical Chemists. Washington DC.

Aygun Yıldız, T. Koray Palazoglu, Ferruh Erdogan (2007). *Determination of heat and mass transfer parameters during frying of potato slices*. Journal of Food Engineering 79: 11–17.

Barat, JM; S. Rodríguez-Barona, A. Andrés, M. Visquert. (2004). *Mass transfer analysis during the cod desalting process*. Food Research International 37: 203-208.

Barat, J.M., Gallart-Jornet, L., Andrés, A., Akse, L., Carlehög M., Skjerdal, O. T. (2006). *Influence of cod freshness on the salting, drying and desalting stages*. Journal of Food Engineering 73, 9-19.

Birkeland, S.; Bencze Rørå, A. M.; Skåra, T.; Bjerkeng, B. 2004. *Effects of cold smoking procedures and raw material characteristics on product yield and quality parameters of cold smoked Atlantic salmon (Salmo salar L.) fillets*. Food Research International, 37(3): 273–286.

Bolin HR, Huxsoll CC, Jackson R (1983) *Effect of osmosis agents and concentration on fruit quality*. J. Food Sci. 48: 202-205.

Cardinal, M.; Knockaert, C.; Torrissen, O.; Sigurgisladottir, S.; Mørkøre, T.; Thomassen, M.; Luc Vallet, J. 2001. *Relation of smoking parameters to the yield, colour and sensory quality of smoked Atlantic salmon (Salmo salar)*. Food Research International, 34(6): 537–550

Casales, María R. Yeannes, María I. (2016) *Mass Transfer Modeling During Marination of Anchovy Fillets in Ternary and Multicomponent Solutions*, Journal of Aquatic Food Product Technology, 25:5, 760-769

- Fito P, Chiralt A, Barat J, Salvatori D, Andrés A (1998) *Some advances in osmotic dehydration of fruits*. Food Sci. Technol. Int. 4: 329-338.
- Fuentes, A. (2007). *Desarrollo de productos ahumados a partir de lubina (Dicentrarchus labrax L.)*. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.
- Fuentes, A., Barat, J.M., Fernández-Segovia, I., Serra J.A. (2008). *Study of sea bass (Dicentrarchus labrax L.) salting process: Kinetic and thermodynamic control*. Food Control, 19, 757-763.
- Fuentes, A.; Fernández-Segovia, I.; Serra, J. A.; Barat, J. M. (2012). *Effect of partial sodium replacement on physicochemical parameters of smoked sea bass during storage*. Food Science and Technology International 18(3): 207–17.
- Gallart-Jornet, L, Barat, J. M., Rustad, T., Erikson, U., Escriche, I., & Fito, P. (2007). *Influence of brine concentration on Atlantic salmon fillet salting*. Journal of Food Engineering, 80(1), 267-275.
- Giannini, D. H.; L. Davidovich y H. Lupín. 1979. *Adaptación del método de uso comercial para la determinación de nitrógeno básico volátil en merluza (Merluccius hubbsi)*. Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos 19(1): 55-60.
- Kirk R. S., Sawyer R & Egan, H. (1996) *Composición y análisis de alimentos de Pearson*, segunda edición; Compañía editorial continental SA de CV, México.
- Larrazábal MJ, Escriche I, Camacho MM (2010) *Changes in quality associated with the conditions of marinating of salmon (Salmosalar) and their evolution during storage*. CyTA - J. Food 8: 39-47.
- Leroi, F.; Joffraud, J. J. 2000. *Salt and smoke simultaneously affect chemical and sensory quality of cold-smoked salmon during 5 °C storage predicted using factorial design*. Journal of Food Protection, 63(9): 1222-1227.
- López L, Dávila L (2005). *Salado de merluza por pila seca, húmeda y por deshidratación osmótica a vacío (Merluccius gayi peruanus)*. Rev. Fac. Ing. Indust.8(2): 07-14.
- Lupín, H. 1978. *Principles of salting and drying hake. Technical Consultation on the Latin America hake Industry*. FAO. Fisheries Report. FIIU/R 203. Suppl. 1, pp. 161- 176.
- Lupín, H.M.; Boeri, R.L.; Moschiar (1981). *Water activity and salt content relationship in moist salted fish products*. S.M. Journal of food technology, 16:31-38
- Mendieta OW, Medina ML (1993) *Salado y secado solar de tilapia (Oreochromis sp.) en la región de San Martín*. Folia Amaz.5: 117-127.
- Nasiri FD, Mohebbi M, Yazdi FT, Hossein M, Khodaparast H. (2011) *Kinetic modeling of mass transfer during deep fat frying of shrimp nugget prepared without a pre-frying step*. Food Bioprod. Proc. 89: 241-247.
- Ochoa Martínez C. I., Ayala Aponte A. *Modelos Matemáticos de transferencia de masa en deshidratación osmótica*. Ciencia y Tecnología Alimentaria, vol 4, número 005, Julio 2005.
- Oliveira, H; Pedro, S; Nunes, ML, Costa R, Vaz-Pires P. 2012. *Processing of Salted Cod (Gadus spp.): A Review*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety (11): 546-564.
- Palou E, López-Mab A., Argaiz, A, Walti J (1993). *Deshidratación Osmótica de Papaya: Efectos de la Concentración del Jarabe*. Rev. Esp. Cienc. Tecnol. Alim.33: 621-630.
- Peleg, M. 1988. *An empirical model for the description of moisture sorption curves*. J Food Sci. 53: 1216–1219.
- Peppas, N.A., Brannon-Peppas, L. (1994). *Water diffusion and sorption in amorphous macromolecular systems and foods*. Journal of Food Engineering 22, 189-210.
- Piñeiro Corrales, G., Lago Rivero N., Fernández Olivera R. y Culebras Fernández, J. M. (2013). *Análisis del perfil lipídico de dos especies de merluza "Merluccius capensis y Merluccius paradoxus" y su aportación a la prevención de enfermedades Cardiovasculares*. Nutr Hosp. 2013;28(1):63-70.
- Sánchez J, Lam R (1965) *Principios técnicos de salado y secado del pescado*. Estudio químico de la sal en el litoral. Inf. Inst. Mar Per. 9: 3-37
- Tirado, Diego Felipe; Acevedo, Diofanor; Montero, Piedad Margarita. *Cinética de transferencia de masa durante salado de arenca (Triportheus magdalenae)*. Interciencia, vol. 40, núm. 2, febrero, 2015, pp. 127-132, Caracas, Venezuela.

Uribe E., Miranda M., Vega-galvez,A., Quispe I., Clavería R. y Di Scala K. 2011. *Mass transfer modelling during osmotic dehydration of jumbo squid (Dosidicus gigas): Influence of temperature on diffusion coefficients and kinetic parameters.* Food Bioprocess Technology, 4, 320–326.

Wang D., Tang J. y Correia L. 2000. *Salt diffusivities and salt diffusion in farmed Atlantic salmon muscle as influenced by rigor mortis.* Journal of Food Engineering, 43, 115–123.

Zugarramurdi, A., and Lupin, H. 1977. *Studies on anchovy salting II. Dynamics of the process.* Lat. Am. J. Chem. Appl. Chem. 7: 25–38.

Zugarramurdi, A., and Lupin, H. 1980. *A model to explain observed behavior of fish salting.* J.Food Sci. 45: 1305–131.

45TCA. Efecto de la harina de lombriz (*Eisenia foetida*) liofilizada en la nutrición de peces.

Effect of lyophilized earthworm flour (*Eisenia foetida*) in fish nutrition.

Mariana Fernanda del Valle Cruz¹, Enzo Francisco Velasquez Guzman^{1,2}, Sandra Adriana Giunta¹, María Silvina Zutara¹.

1. Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Jujuy. Ítalo Palanca N° 10, San Salvador de Jujuy, Jujuy. 2. CONICET. cmarianafdv@gmail.com

Resumen

La harina de lombriz *Eisenia foetida* representa una alternativa nutricional por el alto contenido de proteínas, razón por la cual podría usarse en la formulación de balanceados para animales como los peces de agua fría. Los objetivos de este trabajo fueron: realizar un balanceado para alevines de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) con una sustitución de la harina de pescado por 25% de harina de lombriz, verificar mediante el análisis proximal y microbiológico el contenido proteico y la inocuidad de dicho alimento respectivamente, y evaluar el efecto del mismo en el crecimiento (longitud y peso) de los peces. El contenido de proteínas, grasas, cenizas y fibras se determinó por métodos oficiales de la AOAC (1995). La composición del balanceado en términos porcentuales fue lo esperado para una fuente de nutrientes de origen animal.

Los recuentos de bacterias aerobias mesófilas (BAM), coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF), mohos y levaduras en el balanceado formulado fueron bajos, verificando la obtención de un producto inocuo. Los peces alimentados con el balanceado aquí formulado evidenciaron mayor peso, longitud y mejor aspecto que aquellos alimentados con un alimento convencional. Es importante destacar que la lombricultura es una alternativa viable para el enriquecimiento de alimentos a nivel industrial.

Palabras clave: *Eisenia foetida*, harina de lombriz, *Oncorhynchus mykiss*, crecimiento.

Abstract

Due to its high protein content, the *Eisenia foetida* earthworm flour is an excellent nutritional alternative for the production of a balanced feed. Therefore, this earthworm flour could be used in the formulation of a nutritionally balanced feed for animals such as cold water fish. The main objectives of this investigation were to formulate a balanced feed for rainbow trout fry (*Oncorhynchus mykiss*) using a 25% substitution of fish flour by earthworm flour, to determine protein content and food safety by proximal and microbiological analysis, and to evaluate the effect of the new formulated feed on fish growth (length and weight). Protein, fat, ashes and fiber content were determined by AOAC (1995) official methods. The chemical composition of the formulated feed agrees with published data corresponding to a source of animal origin.

The low values obtained in aerobic mesophilic bacteria count, total and fecal coliforms count, and molds and yeast counts prove the microbiological quality and food safety of the newly formulated feed. The trouts feed with the formulated meal showed more weight, length, and better overall appearance than conventional feed trouts. It is also important to highlight that vermicomposting is a viable alternative for feed enrichment at industrial scale.

Keywords: *Eisenia foetida*, worm flour, chemical composition, microbiological.

1. Introducción

La lombricultura es una biotecnología de bajo costo y elevado interés ecológico y nutricional, a partir de la cual se pueden reciclar los desechos orgánicos (Paco *et al.*, 2011) y así obtener dos productos: humus y harina de lombriz de alto valor proteico

(Schuldt, 2011; Romero *et al.*, 2010; Mombach *et al.*, 2014).

La lombriz (*Eisenia foetida*) es muy voraz, extremadamente prolífica y vive en grandes densidades, cualidades que no pierde cuando se la cría en cautiverio, siempre y cuando se controlen los factores de humedad y temperatura (Paco *et al.*,

2011; Schuldt, 2011; Suárez Hernández *et al.*, 2016; Giunta, 2012). Este anélido se alimenta de una amplia variedad de materia orgánica como, por ejemplo, residuos de cocina (Giunta, 2012), estiércol de gallinas (Jáuregui *et al.*, 2011; Giunta *et al.*, 2010), llama, caballo, oveja, vaca y conejo (Jáuregui *et al.*, 2011). Además cada día come el equivalente al peso de su cuerpo y el 60% del alimento lo expele en forma de humus (Castillo *et al.*, 2010; Paco *et al.*, 2011; Schuldt, 2011; Giunta, 2012). Este último es un fertilizante orgánico rico en nutrientes necesarios para la fertilidad de los suelos y beneficioso para la nutrición y desarrollo de las plantas (Cruz *et al.*, 2011; Giunta *et al.*, 2014).

Las proteínas son necesarias para la síntesis de enzimas, hormonas y anticuerpos y la formación de tejidos (Fennema, 2010). Análisis bromatológicos de la harina de lombriz reportan valores proteicos bastante elevados, por ejemplo: 67,91% (Suárez Hernández *et al.*, 2016); 59,56% (Valente *et al.*, 2015) y 54,07 % (Cruz *et al.*, 2016). También aporta lisina, un aminoácido esencial que suele estar ausente en algunos alimentos básicos (Suárez Hernández *et al.*, 2016). Algunos investigadores reportan que en dicha harina el contenido de este nutriente, necesario para el crecimiento, es significativo (5,9% p/p), debido a que satisface los requerimientos para niños entre 2-5 años exigidos por la FAO/OMS (Suárez Hernández *et al.*, 2016; Mombach *et al.*, 2014; Schuldt, 2011).

Si se compara el aporte proteico de la harina de lombriz con otros rubros como, por ejemplo, la leche (27,3%), levaduras (32%), huevo de gallina entero y crudo (12 %), pechuga de pollo fresco (16,3 %), lomo vacuno fresco y crudo (20%); se podría observar que es bastante atractiva e invita a pensar que puede ser un producto de altísima calidad, rentable y de muy bajo costo (Schuldt, 2011).

Algunos países orientales como, por ejemplo, China, Japón, Filipinas y Taiwán han incorporado la harina de lombriz al consumo humano debido a sus características nutricionales. No obstante, es importante resaltar que, en la mayoría de los países, el prejuicio cultural y la falta de información de los beneficios que presenta esta lombriz son los que no han permitido su utilización oficial en el campo alimenticio humano (Schuldt, 2011). Sin embargo, existen antecedentes de investigaciones acerca de la incorporación de harina de lombriz en balanceados para animales como, por ejemplo, aves (Arnau, 2005) y roedores (García *et al.*, 2012), donde la mayoría de los resultados reflejaron un aumento de peso de los animales, lo cual se atribuyó al alto porcentaje de proteínas de esta harina.

Por lo tanto, este recurso no convencional se podría utilizar como alternativa nutricional, dado que

contiene los elementos esenciales para la alimentación humana; así como para la formulación de alimentos balanceados para animales. Los peces de agua fría, como la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), son muy exigentes dentro de sus requerimientos básicos; para su desarrollo necesitan 40 % de proteínas, además de ácidos grasos esenciales, vitaminas y minerales (Guillaume; 1999).

Los objetivos de este trabajo fueron: Verificar mediante el análisis proximal y microbiológico el contenido proteico y la inocuidad de un balanceado para alevines de trucha con una sustitución de la harina de pescado por 25% de harina de lombriz, y evaluar su efecto en el crecimiento (longitud y peso) de los peces.

2. Materiales y métodos

Para la elaboración del balanceado para alevines de trucha arco iris se utilizó harina de lombriz (*Eisenia foetida*) liofilizada obtenida en el Laboratorio de Ensayos Biológicos (BIOLAB) de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Jujuy. La harina de pescado, el maíz molido, la harina de soja, el huevo en polvo se obtuvieron del mercado local.

Los bioensayos para determinar la respuesta de los peces a las diferentes dietas se realizaron en las instalaciones del Criadero "Villa María" ubicado en la Quebrada del río Yala, Jujuy.

Formulación y elaboración del balanceado para peces a base de harina de lombriz (BHL)

En base al contenido proteico de un alimento comercial a base de harina de pescado (BCHP), el cual se utilizó como control (DC) en la alimentación de los peces, se formuló el balanceado a base de 25% harina de lombriz y 75% harina de pescado.

La formulación se realizó en base seca, balanceando los niveles de proteínas y lípidos de cada ingrediente, utilizando una hoja de cálculo (Excel). Se mezclaron manualmente la lombriharina, la harina de pescado, el maíz molido, la harina de soja y el huevo en polvo en un bol de plástico; durante el homogeneizado se colocaron el fosfato dicálcico y el carbonato de calcio, se siguieron mezclando las materias primas, humedeciéndolas hasta el grado de una pasta blanda compacta homogénea. Luego, con dicha pasta se llenaron jeringas de plástico de repostería, con el pico adecuado para obtener los pellets con un diámetro de 0,3 cm. Sobre una base de silicona para hornear se armaron los pellets y se colocaron en la estufa (TECNODALVO) a 60 °C durante aproximadamente 40 horas, hasta alcanzar una humedad entre el 5 y 10%. Una vez enfriado, el

alimento se envasó al vacío para su conservación y posteriores análisis.

Determinación del valor nutricional de la harina de lombriz liofilizada (HL) y secada en estufa (HSE)

Se realizó el análisis proximal (humedad, proteínas, lípidos, cenizas y fibras) de la HL y HSE por triplicado, aplicando los Métodos A.O.A.C. (1995). Los carbohidratos solubles se calcularon por diferencia (composición centesimal).

Análisis de calidad microbiológica de la harina de lombriz liofilizada (HL) y secada en estufa (HSE)

Se realizó el recuento en placa de bacterias heterótrofas mesófilas aerobias (BHMA), mohos y levaduras, y determinación de NMP (número más probable) de coliformes totales.

Alimentación de los peces

Se utilizaron 8 tachos de 200 L (0,2 m³) los cuales fueron acondicionados, lavados y desinfectados con solución de yodo al 10% antes de su uso. En cada tacho se colocaron 10 alevines de trucha arco iris, previamente seleccionados por peso (4 – 5 g de peso corporal) y longitud (4 – 6 cm). Los peces tenían 90 días de vida.

El suministro de alimento se llevó a cabo en forma manual y controlada durante 60 días. La entrega de alimento se efectuó en dos raciones diarias: por la mañana entre las 08:00 y las 09:00 hs y por la tarde entre las 16:00 y las 17:00 hs. En cuatro tachos se utilizó el BHL (25% harina de lombriz y 75% harina de pescado) y en los otros cuatro el BCHP (100% harina de pescado), este último se tomó como control.

3. Resultados y Discusión

Composición química del BHL

En la Tabla 1 se muestran los contenidos totales de nutrientes para el balanceado con harina de lombriz (BHL) y el balanceado comercial a base de harina de pescado (BCHP). Cabe destacar que los valores expuestos en dicha tabla para el balanceado comercial es copia fiel del etiquetado del mismo.

Tabla 1. Composición química BHL y BCHP.

Componente (%)	BHL	BCHP
Humedad	5,12 ± 0,04 ^a	11,0 ± 0,01 ^b
Proteínas	48,10 ± 0,25 ^a	32 ± 0,21 ^a
Lípidos	20,43 ± 0,28 ^a	8,0 ± 0,22 ^b
Fibras	10,04 ± 0,05 ^b	13,41 ± 0,01 ^b
Cenizas	4,02 ± 0,06 ^a	17,21 ± 0,01 ^b

Letras diferentes en la misma fila muestran diferencias significativas (p<0,05), n=3.

Al comparar los datos de la composición química del BHL y del BCHP observamos que el BHL presenta un contenido de humedad de 5,12% y el BCHP 11%, con diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) entre los tratamientos. Ambos balanceados presentan valores óptimos de humedad, ya que están por debajo del Límite Máximo de Humedad para alimentos farináceos (15% = 15 g/100g) establecido por el Código Alimentario Argentino. Phillips *et al.* (2008) en su Manual para el cultivo de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) proponen una dieta estándar para alevines de esta especie, la cual contempla un valor de 10% de humedad (Tabla 2); dicho valor se aproxima al del BCHP y duplica al del BHL. El menor valor de humedad del BHL favorece su conservación por un tiempo más prolongado, debido a que va a existir menor crecimiento de microorganismos que lo deterioren.

Tabla 2. Composición química de la dieta estándar para alevines de trucha.

Componente (%)	Dieta estándar para alevines
Humedad	10
Proteínas	50
Lípidos	7
Fibras	4

Fuente: Phillips et al., 2008.

Las proteínas de las muestras del BHL y del BCHP presentaron niveles de 48,1% y 32% respectivamente, sin diferencias estadísticamente significativas (p>0,05) entre los tratamientos. De acuerdo a los valores anteriores para cada balanceado, vemos que en cuanto a proteínas el BHL se asemeja más a la dieta estándar (50% proteínas) recomendada por Phillips *et al.*, 2008.

La muestra de BHL presentó 20,43% de contenido lipídico, mientras que la muestra de BCHP un valor de 8%, con diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) entre los tratamientos. Phillips *et al.* (2008) informan un 7% de lípidos en su dieta estándar, dicho valor es muy próximo al del BCHP y muy inferior al del BHL.

Los porcentajes de fibras, 10,04% para BHL y 13,41% para BCHP, no presentan diferencias estadísticamente significativas (p>0,05) entre los tratamientos. Dichos valores están por arriba de lo reportado por Phillips *et al.* (2008), el cual corresponde a 4 % de fibras. La gran magnitud de dicha diferencia puede deberse al proceso de elaboración de los distintos balanceados, el origen, la calidad y manipulación de las materias primas.

Los valores de cenizas, 4,02% para BHL y 17,21% para BHP, presentan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos. Esta diferencia puede deberse al origen, calidad y manipulación de las materias primas para la elaboración de los distintos balanceados.

El uso de la harina de lombriz y de pescado en la formulación de balanceados, radica en que los salmónidos utilizan mejor como fuente de proteínas los alimentos de origen animal que aquellos de origen vegetal, lo que los distingue de otros peces (Pokniak, 1999).

El balanceado a base de harina de lombriz elaborado presenta un nivel superior de proteínas en relación con los balanceados comerciales, aproximándose a lo recomendado por Phillips *et al.* (2008) en su dieta estándar para alevines de trucha.

El análisis microbiológico del BHL se realizó por duplicado, se cuantificaron bacterias aerobias mesófilas, coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF), mohos y levaduras.

El contenido de BAM para el BHL fue de $8,7 \times 10^4$ (Tabla 3), este valor es mucho mayor que el obtenido para la HL (Tabla 3). Esto puede estar relacionado a la calidad y manipulación de las materias primas para su elaboración y problemas de almacenamiento.

Los contenidos de mohos y levaduras para el BHL fueron de 4×10^2 y $3,3 \times 10^2$ UFC/g (Tabla 3), estos valores podrían considerarse satisfactorios porque fueron menores a los obtenidos para la HL.

El valor de CT para el BHL fue de 75 NMP/ml, sin evidenciar la presencia de CF (Tabla 3), este valor es mucho mayor que el obtenido para la HL. Esta diferencia podría estar asociada a una posible contaminación post tratamiento térmico.

Sin embargo, a pesar de un alto valor de CT, no se detectó la presencia de coliformes fecales, lo cual es un indicador de que no hubo contaminación fecal ni presencia de patógenos en el balanceado. Por lo tanto, este producto resulta inocuo para su consumo.

Tabla 3. Análisis microbiológico de la harina HL

Muestra	BAM (UFC/g)	CT (NMP/ml)	CF (NMP/ml)	Mohos (UFC/g)	Levaduras (UFC/g)
HL *	$3,4 \times 10^4$	3	ND	$5,3 \times 10^2$	4×10^2
BHL	$8,7 \times 10^4$	75	ND	4×10^2	$3,3 \times 10^2$

*Datos ya publicados por los mismos autores.

Alimentación de los peces

En la Tabla 4 se pueden observar los pesos iniciales de los alevines y los pesos que adquirieron al cabo de 60 días de alimentación con los distintos balanceados. Es evidente que los peces alimentados con el BHL adquirieron mayor peso que los alimentados con el BHP.

Tabla 4. Peso de los alevines alimentados con BHL y BHP.

n = 10	BHL		BHP	
	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Peso inicial (g)	Peso final (g)
Lote 1	43,8	178,5	44,5	133,3
Lote 2	46,2	174,3	43,3	125,6
Lote 3	42,3	167,4	46,8	132,9
Lote 4	46,7	172,1	42,2	128,7

En la Tabla 5 se pueden observar las longitudes iniciales de los alevines y los pesos que adquirieron al cabo de 60 días de alimentación con los distintos balanceados. Es evidente que los peces alimentados con el BHL adquirieron mayor longitud que los alimentados con el BHP.

Tabla 5. Longitud de los alevines alimentados con BHL y BHP.

n = 10	BHL		BHP	
	Longitud inicial (cm)	Longitud final (cm)	Longitud inicial (cm)	Longitud final (cm)
Lote 1	4,6	11,6	5,1	10,7
Lote 2	5,2	12,1	4,8	10,2
Lote 3	5,6	12,5	5,7	11,3
Lote 4	5,3	11,8	5,5	10,8

Al realizar el tratamiento estadístico de los pesos medios finales de los alevines alimentados con los distintos balanceados, podemos observar en la Tabla 6 que hay diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos de todos los lotes con respecto al método y tiempo de alimentación.

Tabla 6. Pesos finales de los alevines alimentados con BHL y BHP.

n = 10	BHL	BHP
	Peso (g)	Peso (g)
Lote 1	$178,5 \pm 0,01^b$	$133,3 \pm 0,01^a$
Lote 2	$174,3 \pm 0,02^b$	$125,6 \pm 0,05^a$
Lote 3	$167,4 \pm 0,08^b$	$132,9 \pm 0,02^a$
Lote 4	$172,1 \pm 0,04^b$	$128,7 \pm 0,03^a$

Letras diferentes en la misma fila muestran diferencias significativas ($p < 0,05$).

Al realizar el tratamiento estadístico de las longitudes medias finales de los alevines alimentados con los distintos balanceados, podemos

observar en la Tabla 7 que hay diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos de los lotes 2 y 3, mientras que no hubo diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los tratamientos de los lotes 1 y 4 con respecto al método y tiempo de alimentación.

Tabla 7. Longitudes finales de los alevines alimentados con BHL y BHP.

n = 10	BHL	BHP
	Longitud (cm)	Longitud (cm)
Lote 1	$11,6 \pm 0,02^a$	$10,7 \pm 0,14^a$
Lote 2	$12,1 \pm 0,01^b$	$10,2 \pm 0,09^a$
Lote 3	$12,5 \pm 0,01^b$	$11,3 \pm 0,02^a$
Lote 4	$11,8 \pm 0,02^b$	$10,8 \pm 0,19^b$

Letras diferentes en la misma fila muestran diferencias significativas ($p < 0,05$).

Ibáñez *et al.* (2001), encontraron que al sustituir parcialmente la harina de pescado por harina de lombriz en un 25% las truchas presentaron los mayores crecimientos, y el menor crecimiento fue observado cuando la harina de pescado fue sustituida 100% por harina de lombriz. En esta investigación, tanto la longitud como peso finales de los alevines de trucha alimentados con BHL (25% harina de lombriz + 75% harina de pescado) fueron superiores a los de los peces alimentados con BHP (100% harina de pescado), coincidiendo con lo propuesto por Ibáñez.

Por lo tanto, bajo las condiciones de esta investigación, la sustitución parcial de harina de pescado por harina de lombriz ofrece una alternativa viable para la alimentación de las truchas. Sin embargo es necesario continuar evaluando otros niveles de sustitución.

Es importante considerar el método de secado para obtener la harina de lombriz, ya que la temperatura y el tiempo de secado son factores fundamentales que afectan la calidad de la misma.

4. Conclusiones

A partir de la comparación de la composición química entre los balanceados elaborados con una parte harina de lombriz vs balanceados comerciales (100% harina de pescado), se puede concluir que el primero presenta un nivel superior de proteínas y lípidos en relación con el segundo; pero los niveles de fibras, humedad y cenizas son relativamente inferiores.

Según el análisis microbiológico del BHL, los valores fueron normales a excepción de los coliformes totales; esto pudo deberse a una contaminación post tratamiento térmico. Sin

embargo, a pesar de un alto valor de CT, no se detectó la presencia de coliformes fecales. Por lo tanto, este producto resulta inocuo para su consumo.

Tanto la longitud como peso finales de los alevines de trucha alimentados con BHL fueron superiores a los de los peces alimentados con BHP. Por lo tanto, podemos concluir que los peces se desarrollan mejor cuando son alimentados con un balanceado a base de 25% harina de lombriz y 75% harina de pescado que cuando son alimentados con un balanceado a base de 100% harina de pescado.

5. Referencias

1. Arnau, M. E. 2005. Bio-nutrientes orgánicos naturales a partir de carnes rojas de lombrices *Eisenia foetida*. (Tesis doctoral). Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de Jujuy.
2. Castillo H.; Hernández A.; Domínguez D. y Ojeda D. 2010. Efecto de la Lombriz Roja Californiana (*Eisenia foetida*) en la Dinámica de Nutrientes de una mezcla de materiales semicompostados. Revista chilena de investigación agrícola, 70(3): 465-473.
3. Cruz, L. B.; Ponce, R. I.; Jáuregui H. S. & Giunta, S. A. 2011. Vermicompostage evaluation in the germination and the growth gives *Solanum lycopersicum* L. BIOCELL, 35(2): 167.
4. Cruz, M. F.; Giunta, S. A.; Zutara, M. S. y Velasquez Guzman, E. F. 2016. Análisis proximal y microbiológico de la harina de lombriz *Eisenia foetida*. Investigaciones en Facultades de Ingeniería del NOA.
5. Fennema Owen R. 2010. Química de los alimentos. 3a Edición. Editorial ACRIBIA, S. A. España.
6. García, D.; Cova, L.; Briceño, S.; Scorza, J.; Montilla, F.; Medina, M.; Perea, F. y González, D. 2012. Metabolitos nitrogenados en el hámster dorado alimentado a base de harina de lombriz (*Eisenia* spp.). Archivos de zootecnia, 61(234): 163-174.
7. Giunta, S. A.; Jáuregui, H.S.; Cruz, L. B. & Zutara, M.S. 2014. Evaluation of vermicompost from llama and sheep guano as a substratum in basil culture. BioCell 38 (1): 1-86.
8. Giunta, Sandra A. 2012. Aportes al conocimiento del comportamiento de la lombriz de tierra. Evaluación de sustratos orgánicos en la cría de *Eisenia andrei* y en la producción de lombricompostos. Editorial Académica Española. España.
9. Guillaume, J. 1999. Nutrition et alimentation des poissons et crustacés. (ser. Du laboauterrain), Paris, France: Institut National de Recherche Agronomique, 489 p., ISBN: 978-2-7380-0810-7.
10. Jáuregui, H. S.; Cruz, L.; Ponce, R. I. y Giunta, S. A. 2011. Evaluación de sustratos orgánicos de origen animal en el comportamiento de *Eisenia andrei*. Investigaciones en Facultades de Ingeniería del NOA. Editorial UNCA. TOMO 2. Pág.: 1125-1128.
11. Jáuregui, H. S.; Cruz, L.; Ponce, R. I. y Giunta, S. A. 2011. Evaluación de lombricompostos provenientes de gallinaza en plantas de *Zea mayz* (Var. capia). Investigaciones en Facultades de Ingeniería del NOA. Editorial UNCA. TOMO 2. Pág.: 1129-1132.
12. Jáuregui, H.S.; Zutara, M.S. y Giunta, S.A. 2011. Comportamiento de *Eisenia andrei* en sustratos orgánicos avícolas. Investigaciones en Facultades de Ingeniería del NOA. Editorial UNCA. TOMO 2. Pág.: 1133-1136.
13. Mombach, P.I.; Pianesso, D.; Adorian, T.J.; Uczay, J. y Lazzari, R. 2014. Farinha de minhoca em dietas para juvenis de jundiá. Pesquisa Agropecuária Tropical. 44(2): 151-157.
14. Paco, G.; Loza-Murguía, M.; Mamani, F. & Sainz, H. 2011. Effect of the californian red worm (*Eisenia foetida*) during the composteo and vermicomposteo in properties of the Experimental Station of the Academic Rural Unit Carmen Pampa. Journal of the Selva Andina Research Society, 2 (2): 24-39.
15. Phillips, V. 2009. Manual básico para el cultivo de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). Disponible en: <https://issuu.com/lcamues/docs/> Fecha de consulta: marzo de 2017.
16. Pokniak, J.; Cornejo, S; Galleguillos, C.; Larraín, C.; Battaglia, J. 1999. Efectos de la extrusión o peletización de la dieta de engorda sobre la respuesta productiva de la trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) tamaño plato. Arch. med. vet. 31(1). Valdivia.
17. Romero, B. A.; Bou-Maroun, E.; Reparet, J. M.; Blanquet, J. & Cayot, N. 2010. Impact of lipid extraction on the dearomatisation of an *Eisenia foetida* protein powder. Food Chemistry. 119: 459-466.
18. Schuldt M. 2011. Lombricultura teoría y práctica. Ediciones Mundi-prensa. Madrid – Barcelona – México.
19. Suárez Hernández, L.; Barrera Zapata, R. y Forero Sandoval, A. F. 2016. Evaluación de alternativas de secado en el proceso de elaboración de harina de lombriz. Revista Corpoica: Ciencia y Tecnología Agropecuaria. 17(1): 55-71.
20. Valente, B.; Gonçalves Xavier, E.; Gamboa Araújo Morselli, T. y Lopes, M. 2015. Proteína bruta

da farinha de minhoca da espécie *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) submetida a diferentes tratamentos térmicos. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal.* 9 (1): 99-104.

46TCA. Evaluación y caracterización de films y recubrimientos de almidón de mandioca.

Evaluation and characterization of cassava starch films and coatings.

Florencia Vasco¹, Laura A. Campañone^{1,2}, Miriam E. Agnelli¹.

1. CIDCA (CONICET-CCT y Universidad Nacional de La Plata). 2. Facultad de Ingeniería- UNLP. 47 y 116 – (1900) La Plata. Argentina.

Resumen

En este trabajo se evaluó la efectividad de la incorporación de aceite en recubrimientos comestibles a base de almidón de mandioca, con el objetivo de retardar el deterioro de zanahorias mínimamente procesadas refrigeradas. Para ello, rodajas de zanahoria fueron sumergidas en dos dispersiones de almidón al 3%: sin y con agregado de 0,1 g de aceite de girasol/g almidón (RAM0 y RAM01, respectivamente). Las muestras recubiertas fueron envasadas y almacenadas bajo refrigeración, junto a rodajas sin recubrir (control). La eficiencia del recubrimiento fue evaluada a través de la evolución del color, firmeza y pérdida de peso (PP) de las rodajas. Además, se prepararon films mediante la técnica de moldeado en placa a partir de las mismas soluciones (AM0 y AM01, sin y con aceite respectivamente). La caracterización incluyó la determinación de las propiedades de afinidad con el agua (solubilidad, permeabilidad y humedad), mecánicas y de color. AM01 resultó un film de menor permeabilidad, humedad y esfuerzo a la ruptura que AM0, sin alterar el color. Estos resultados se correlacionan con el mejor aspecto visual, firmeza y color de las RAM01 con respecto a RAM0. La incorporación de aceite genera un recubrimiento estable y flexible que además mejora las propiedades de barrera al agua y prolonga la vida útil de las rodajas de zanahorias.

Palabras clave: Film, Recubrimiento, Aceite, Almidón de mandioca.

Abstract

Cassava starch coatings containing oil were evaluated on sliced refrigerated minimally processed carrots. Thus, carrot slices were immersed in starch dispersions (3%) without and with the addition of 0.1 g sunflower oil/g starch (RAM0 and RAM01, respectively). The coated and uncoated samples (Control) were packed and stored under refrigeration. The coating effectiveness was evaluated through the color, firmness and weight loss evolution of the carrot slices. Besides, films were casted by the molded dish technique using the same dispersions as before (AM0 and AM01, without and with oil, respectively). Films were characterized through their water affinity (solubility, permeability and humidity), mechanical and color properties. AM01 presented a lower permeability, humidity and rupture strain than AM0 without any color change. These results are in agreement with the better visual aspect, color and firmness showed by RAM01 as regards to RAM0. Oil addition to cassava starch formulation improves water barrier properties and generates a stable, homogeneous and flexible coating extending carrot slices shelf life.

Keywords: Film, Coating, Oil, Cassava starch.

1. Introducción

Los recubrimientos comestibles han demostrado actuar como una útil estrategia en la preservación en vegetales mínimamente procesados. El recubrimiento funciona como barrera para la pérdida de agua y el intercambio de gases provocando un efecto similar al obtenido empleando almacenamiento bajo atmósfera modificada, permitiendo mantener la firmeza, apariencia visual y sabor del producto. Los recubrimientos basados en polisacáridos presentan baja permeabilidad al O₂ y CO₂, reduciendo la velocidad de respiración de los productos mínimamente procesados. Diversos almidones se han empleado con éxito originando recubrimientos que no imparten olor ni sabor al producto. Son capaces de formar una matriz polimérica continua biodegradable, pero exhiben un fuerte carácter hidrofílico que los convierte en una barrera ineficiente para el vapor de agua. Algunos estudios han apuntado a evaluar cambios en la formulación del recubrimiento teniendo en cuenta principalmente las propiedades del alimento que se busca conservar. Entre ellos, se ha propuesto la incorporación de varios compuestos lipídicos a la matriz polimérica, junto con el agregado de agentes surfactantes como estabilizadores de la emulsión formada, con el objetivo de mejorar las propiedades de barrera al vapor de agua de diversos frutos (Velickova et al., 2013, Fagundes et al., 2014). No obstante, se ha afirmado que el empleo de materiales grasos afectan tanto a las propiedades de las formulaciones formadoras de recubrimiento como de los films secos, incidiendo sobre sus propiedades ópticas, mecánicas, de barrera a los gases y viscosidad (Rhim y Shellhammer, 2005). Sin embargo, de la estabilidad de esta emulsión depende la microestructura del recubrimiento y sus características.

La zanahoria es una de las hortalizas mínimamente procesadas más buscadas para su uso en sopas y ensaladas a pesar de su corta vida de estante. Ciertamente, el proceso de respiración conduce al desarrollo de un sabor amargo por la síntesis de productos fenólicos (Lafuente et al., 1989) y a la apariencia blanquecina que presenta sobre la superficie producto de posibles reacciones de lignificación u oxidación de los carotenos. Se ha reportado que el uso de diferentes recubrimientos condujo a un mantenimiento en el color, el contenido de carotenos, la textura y la estabilidad microbiológica durante el almacenamiento de zanahorias cortadas. (Jagannath et al., 2006). Por otro lado, resulta necesario tener previo conocimiento de las características de los films secos, ya que contribuye a la comprensión de las propiedades de los recubrimientos. En particular, la carga superficial y distribución de tamaño de las partículas afecta fuertemente al sistema durante el proceso de secado del film, factores a los que el

fenómeno de desestabilización de la emulsión está ampliamente ligado (Morillon et al., 2002). Las propiedades del film más relevantes para definir su uso potencial para una aplicación específica son las de barrera, mecánicas y ópticas (Sánchez-González et al., 2009). Un recubrimiento empleado para preservar la calidad de hortalizas frescas deberá ser lo suficientemente resistente a la transmisión de vapor de agua como para disminuir fenómenos como la deshidratación superficial y la pérdida de peso (Lin et al., 2007). Las propiedades mecánicas reflejan la habilidad que tiene el film para proteger la integridad del alimento. El alargamiento está relacionado con el aumento de la movilidad de las cadenas que forman la película y la capacidad de absorción de agua de la matriz (Manoi y Rizvi, 2010). La resistencia mecánica es necesaria para mantener la integridad estructural y las propiedades de la película. Sin embargo, una deformabilidad apropiada también es deseada para un fácil manejo en la mayoría de las aplicaciones. Por otro lado, una estructura muy rígida daría films quebradizos que se traduciría en una matriz no uniforme ni adecuada para proteger un producto. A su vez, el color podría afectar la aceptación del consumidor en aplicaciones que involucren alimentos. En este trabajo nos proponemos evaluar el efecto de la incorporación de aceite para la formulación y caracterización de films y recubrimientos comestibles aplicados a rodajas de zanahorias refrigeradas.

2. Materiales y métodos

Se utilizaron almidón de mandioca (AM) y aceite de girasol de grado alimenticio comercial. Se usó además glicerina con pureza del 99,9% (Biopack) y Tween 20 (99,9 % Biopack).

Las zanahorias (*Daucus carota*) variedad "Chantenay" fueron adquiridas en el mercado local. Luego del lavado, fueron peladas y cortadas en rodajas de 1 cm de espesor.

Preparación y obtención de emulsiones de almidón de mandioca.

Se obtuvieron suspensiones de AM al 3% (p/p) por gelatinización en caliente a 72°C bajo agitación constante hasta su completa disolución. Posteriormente, se agregó glicerol (20 gr/100 gr de almidón), la fase grasa (0.1 gr/ gr de AM) y el agente surfactante (10 % de aceite (p/p)).

Las emulsiones estables fueron obtenidas mediante un homogeneizador ultrasónico de punta (Sonic Ruptor, Omni Inc.) al 50 % de la potencia durante 5 min.

Aplicación del recubrimiento y almacenamiento de las muestras

La aplicación del recubrimiento se realizó por inmersión de las rodajas de zanahoria en la emulsión

durante 2 min. Luego fueron secadas en estufa con convección forzada a 25°C. A continuación, las rodajas fueron pesadas y envasadas en bolsas de polietileno de baja densidad, de 70 micrones de espesor, con permeabilidad intermedia al oxígeno, evitando posible deterioro oxidativo por exceso de oxígeno o fermentación por ausencia total del mismo.

El almacenamiento se llevó a cabo en cámara de refrigeración a 4°C durante 45 días. También se envasaron rodajas sin recubrir, como muestra control (MC). Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

La calidad del producto fue evaluada a diferentes tiempos de almacenamiento (0, 15, 30 y 45 días), a través de medidas de textura, color y pérdida de peso.

Textura

Las medidas de textura se realizaron con un analizador de textura TA.XT2i–Stable Micro Systems (Reino Unido). Se empleó una fuerza de compresión al 30% de deformación utilizando una sonda cilíndrica plana (25 mm de diámetro). La fuerza se mide con una celda de 1 N a una velocidad de deformación de 0,5 mm/s. La textura del tejido se determinó a través del desplazamiento en la fuerza máxima sobre diez rodajas (test de punción).

Color

El color se midió mediante un sistema de visión computacional (SVC), compuesto por un ambiente de iluminación controlada, una cámara digital, una tabla de colores estándar utilizado para su calibración y un procesador de imágenes en el espacio de color Rojo, Verde, Azul (RGB). La conversión RGB a CIELab se implementó usando un modelo teórico conocido y diversos modelos matemáticos empíricos (Goñi y Salvadori, 2017). La determinación de los parámetros de color se realizó sobre imágenes de tres muestras para cada tratamiento.

Los resultados se expresaron como WI (Índice de blanqueamiento), a través de:

$$WI=100-\sqrt{(100-L^*)^2+(b^*)^2+(a^*)^2}$$

Pérdida de Peso (PP)

Para cada tratamiento se pesaron tres rodajas en una balanza analítica $\pm 0,001$ g de precisión. Se calculó la razón de pérdida de peso (g) respecto al peso inicial de las muestras. Los resultados fueron informados como el promedio de las tres mediciones.

Elaboración de películas

Las películas se prepararon a partir de la emulsión mediante la técnica de moldeado en placa. Se

colocaron 20 gr de la misma en capsulas de Petri de PVC de 9 cm y se secaron en estufa a 27°C hasta contenido de humedad constante. Los films obtenidos se acondicionaron a 75% de humedad durante dos semanas. Las películas obtenidas fueron caracterizadas a través de sus propiedades de afinidad por el agua (solubilidad, humedad y permeabilidad), ópticas (cambio de color e índice de blanqueamiento) y mecánicas (tensión y elongación a la ruptura).

Propiedades de afinidad por el agua:

Solubilidad en Agua. Muestras de film 3x3 cm fueron pesadas, sumergidas en agua destilada mantenidas en agitación durante 1 hora a 20°C. Las piezas remanentes fueron secadas a 105°C hasta alcanzar peso constante y se calculó el porcentaje de solubilidad (S) de acuerdo a la siguiente expresión:

$$S(\%) = \frac{\text{Peso seco inicial} - \text{Peso seco final}}{\text{Peso seco inicial}} \times 100$$

Contenido de Humedad: la pérdida de peso de las películas se determinó mediante método gravimétrico, antes y luego de ser secadas en estufa a 105°C hasta peso constante. Los resultados obtenidos se expresaron como (g agua/100 g película).

Permeabilidad al vapor de agua (WVP.) Se midió usando el método ASTM E96 (1995) con algunas modificaciones. Las muestras se colocaron en celdas de permeabilidad de acrílico con una abertura de área conocida, conteniendo en su interior silica gel (0% HR). Una vez pesadas en una balanza analítica, las celdas fueron ubicadas en una cámara a 20°C con 75% HR. El peso de las celdas se registró a intervalos regulares de tiempo. La permeabilidad al vapor de agua se determinó a partir de: la pendiente de la diferencia de peso en función el tiempo ($\Delta W/\Delta t$), el espesor de la película (δ), el área expuesta (A) y la diferencia de presión parcial del agua (Δp), siendo su expresión:

$$WVP = \frac{\left(\frac{\Delta W}{\Delta t}\right) \delta}{A \Delta p}$$

Propiedades ópticas: Color.

Los parámetros de color superficial L^* , a^* , b^* de las películas se registraron con un colorímetro Minolta (CR 400, Osaka, Japón). Las medidas se realizaron colocando las películas sobre la placa de calibración ($Y = 93,2$ $X = 0,3133$ $y = 0,3192$). Los resultados fueron informados como índice de blanqueamiento (WI) y cambio de color (ΔE^*), con la siguiente expresión:

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta a^*)^2}$$

Propiedades mecánicas.

Se realizaron ensayos de tracción en un texturómetro TA.XT2i-Stable Micro Systems (Reino Unido) empleando mordazas de tensión A/TG y probetas de películas de 3×0,7 cm. Se registraron las curvas de fuerza (N) en función de la deformación (mm) y a partir de las mismas se calcularon los siguientes parámetros de acuerdo a la norma ASTM D882-91 (1996): el esfuerzo a la ruptura (MPa, fuerza a la ruptura por unidad de sección transversal del film) y el porcentaje de elongación a la ruptura (E%, deformación a la ruptura por unidad de longitud inicial de la probeta).

Propiedades de la emulsión.

Se midió el tamaño medio de gota por dispersión dinámica de la luz utilizando un equipo Horiba Nano Partica SZ-100 a 25 °C y tomando el promedio de seis mediciones.

Análisis Estadístico.

Los resultados obtenidos se analizaron mediante análisis de la varianza (ANOVA), utilizando el programa estadístico STATGRAPHICS centurión XVI.I.

3. Resultados y Discusión

I. Caracterización de los films.

La figura 1 muestra los resultados de WVP de los films de AM con y sin agregado de aceite (AM01 y AM0), respectivamente. Se puede observar que la adición de la fase grasa conduce a una disminución importante de la WVP. Esto podría relacionarse con cambios en la integración del polímero y el lípido en la matriz dando lugar a una red con más dificultades para el transporte de moléculas de agua. Trabajos previos en los que se incorporaban lípidos a matrices de almidones, indican su efecto potenciador de las propiedades barrera al vapor de agua por fenómenos de asociación entre los compuestos (García et. al., 2000; Bravín et. al., 2006).

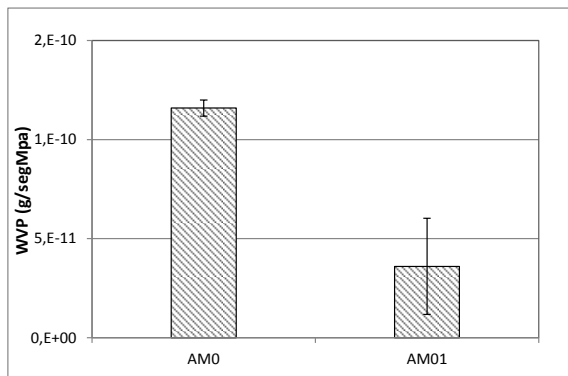


Figura 1. Permeabilidad al vapor de agua (WVP) de los films con y sin aceite AM01 y AM0, respectivamente.

La solubilidad de los films (figura 2) no se ve afectada por el agregado de aceite. Los valores alcanzados no superaron el 35% en ambos casos (AM0 y AM01). Estos son valores aceptables para su aplicación como recubrimiento en productos frescos cortados de alto contenido de humedad dado que películas muy solubles sobre este tipo de alimentos conduciría a la pérdida de los compuestos hidrofílicos durante el proceso de transpiración natural. (Chiumarelli, et al., 2012). La humedad de los films, por el contrario, se ve afectada por la incorporación de la fase lipídica, reduciendo su valor casi a la mitad (figura 3). Teniendo en cuenta que este parámetro proporciona información sobre la cantidad de agua presente en el film, este descenso de valor es esperado y consistente con los resultados de estudios previos (Šuput, et. al., 2016).

El esfuerzo máximo a la ruptura de las películas disminuye drásticamente con el agregado de aceite mientras que la deformación aumenta al doble de su valor (figura 4). La presencia de aceite y surfactante provoca una disminución en las interacciones entre las macromoléculas de almidón (de naturaleza semicristalina) favoreciendo el movimiento y reordenamiento de las cadenas y por lo tanto, aumentando la flexibilidad de las películas. (Souza et. al., 2013). Una estructura rígida como la generada con AM0, implicaría un film quebradizo de matriz no uniforme ni adecuada para proteger el producto recubierto. Las películas envejecidas durante 10 días en las condiciones de AM0E y AM01E mostraron un aumento del esfuerzo que podría atribuirse al progreso de la cristalización de la amilosa (Jiménez et al., 2012).

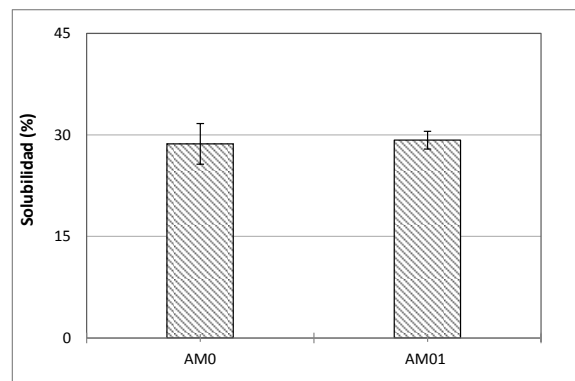


Figura 2. Solubilidad de los films con y sin aceite AM01 y AM0, respectivamente.

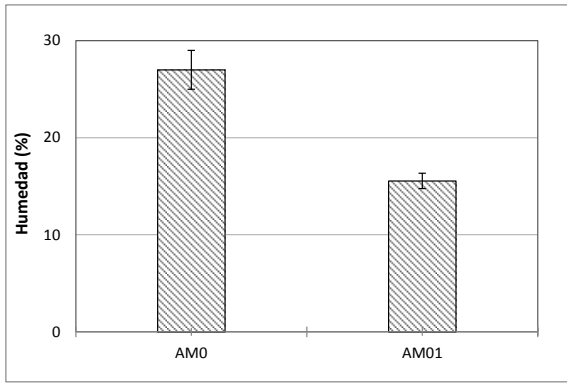


Figura 3. Humedad de los films con y sin aceite AM01 y AM0, respectivamente.

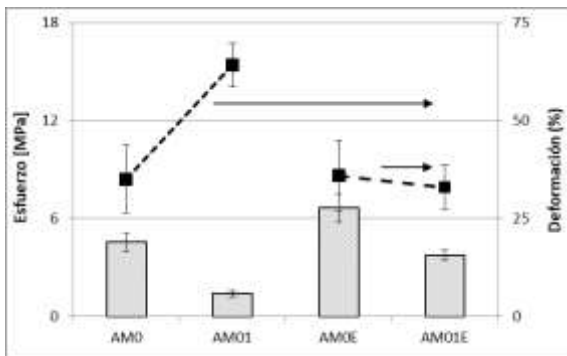


Figura 4. Esfuerzo (barras) y deformación (líneas punteadas) de los films con y sin aceite AM01 y AM0, respectivamente, después del acondicionamiento, AM0E y AM01E después de 10 días en las mismas condiciones.

La figura 5 muestra los parámetros de color (ΔE y WI) de los films de AM con y sin agregado de aceite (AM01 y AM0), respectivamente. Como se ve reflejado en los resultados, la incorporación de aceite no afectó el color de los films, manteniendo elevados los niveles de transparencia (95%). Estos resultados indicarían que el color del producto a recubrir no se vería alterado por la cubierta.

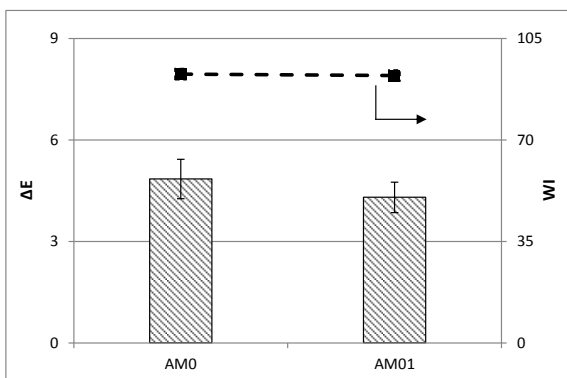


Figura 5. Parámetros de color de los films con y sin aceite (AM01 y AM0) respectivamente, después del acondicionamiento.

Propiedades de la emulsión de AM.

En la tabla 1 se muestran los resultados de las propiedades de la emulsión de almidón de mandioca, evaluadas durante dos horas luego de su formulación. El tamaño de las gotas resultó bajo y no sufrió modificaciones durante el tiempo de evaluación. Se verificó una distribución monomodal (presencia de única población). Estos resultados indicarían la formación de una emulsión homogénea y estable. Tamaños de gota más pequeños implican revestimientos emulsionados más estables, que pueden influir fuertemente en las propiedades de barrera al vapor de agua de la película (Chiumarelli et al., 2012).

Tabla 1. Variación del tamaño de gota en función del tiempo a 25°C.

Tiempo (min)	N° de picos	Tamaño de gota promedio (nm)
0	1	404,4 ± 47 ^a
30	1	432,6 ± 22 ^a
60	1	487,9 ± 15 ^a
120	1	406,9 ± 23 ^a

II. Evaluación del recubrimiento comestible de AM en rodajas de zanahoria.

Los valores de la firmeza de las rodajas recubiertas con las formulaciones de AM con y sin aceite (RAM01 y RAM0) y sin recubrir (Control), normalizados con el valor inicial, se muestran en la figura 6. Hasta el día 21, tanto RAM0 como RAM01 presentaron valores superiores a los hallados en las muestras control. Sin embargo, estas últimas evidenciaron un aumento hacia final del almacenamiento. Este aumento podría explicarse por el endurecimiento y lignificación del tejido, los dos problemas principales que presentan las zanahorias cortadas refrigeradas sin tratamiento alguno (Dussán-Sarria et al, 2015). Los mayores valores firmeza se registraron para RAM0, que puede correlacionarse con el alto esfuerzo a la ruptura observado en los films envejecidos (figura 4) como consecuencia de una matriz no uniforme por cristalización de la amilosa.

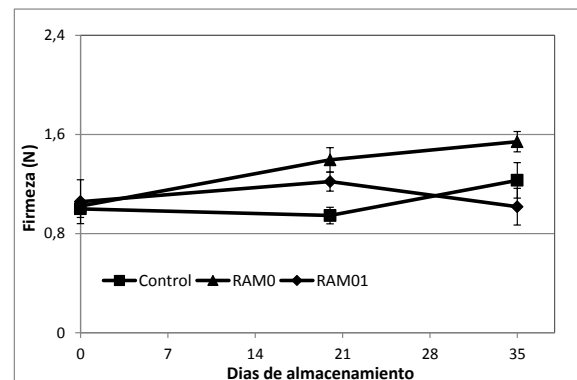


Figura 6. Evaluación de la firmeza de las muestras recubiertas (RAM0 y RAM01) y sin recubrir (control), durante el almacenamiento refrigerado.

La figura 7 muestra los resultados de la evaluación de la pérdida de peso (PP) de muestras RAM0, RAM01 y sin recubrir durante el almacenamiento refrigerado. Todas las muestras registran una PP progresiva a lo largo del tiempo. La menor PP fue para RAM0, quien a su vez presentó los mayores valores de firmeza (figura 6). Estos resultados estarían indicando que el AM genera una barrera semipermeable al vapor de agua en las rodajas. Estudios anteriores han reportado que recubrimientos a base de este polímero aplicados a diversas hortalizas lograron retardar la pérdida de peso frente al testigo (Barco et al., 2011; Ordoñez Bolaños 2014). La incorporación de aceite no ha mostrado una incidencia positiva sobre la PP.

Las zanahorias mínimamente procesadas pierden rápidamente su color anaranjado brillante por la deshidratación del tejido, dando origen al desarrollo de áreas blanquecinas en la superficie. Este problema junto deterioro microbiano, son las principales causas que limitan la vida útil de las zanahorias recién cortadas (Simões et. al. 2010). En la figura 8 se exponen los resultados normalizados con el valor inicial del índice de blanqueamiento (WI). Se puede observar un aumento de WI durante el almacenamiento de las muestras RAM0 y control, evidenciándose un fenómeno de decoloración en las rodajas. Por otro lado, la incorporación de aceite tuvo una influencia positiva en la evaluación del color que se traduce en los bajos valores de WI hallados en las muestras RAM01. En efecto, el WI de éstas últimas se mantuvo sin cambios durante el almacenamiento indicando que este recubrimiento actuaría como barrera eficaz ante la deshidratación superficial. Estos resultados pudieron verificarse claramente con la observación visual de las rodajas al inicio y final del almacenamiento (figura 9). Sin embargo, estos resultados tienen una relación inversa a los hallados para la PP (figura 7).

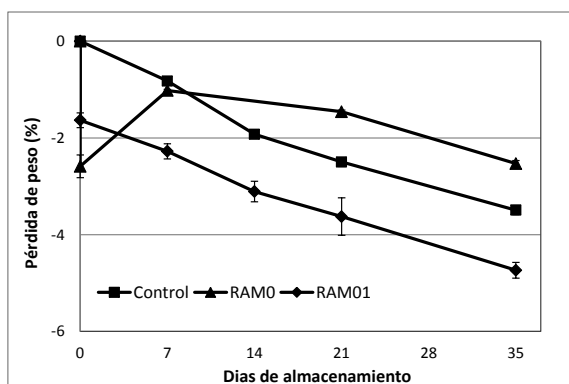


Figura 7. Pérdida de peso (PP, %) de las rodajas recubiertas (RAM0 y RAM01) y sin recubrir (control), durante el almacenamiento refrigerado.

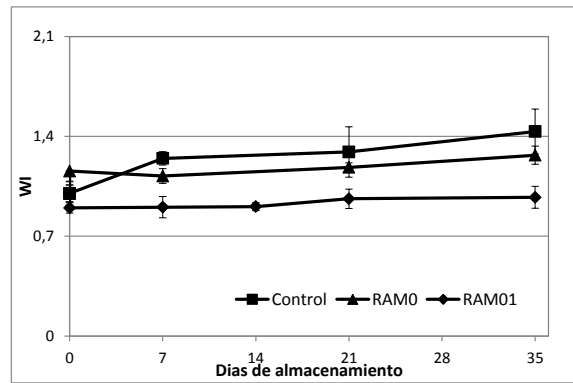


Figura 8. Índice de Blanqueamiento (WI) de las rodajas recubiertas (RAM0 y RAM01) y sin recubrir (control) durante el almacenamiento refrigerado.

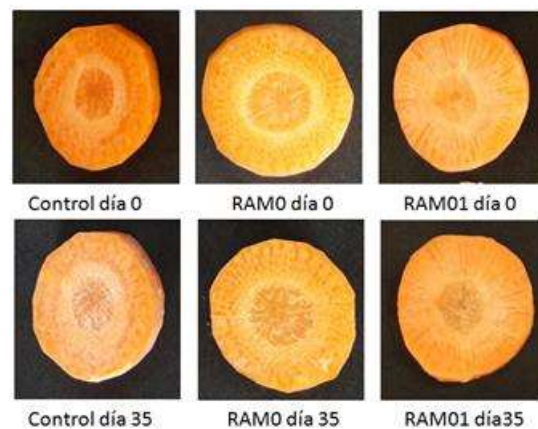


Figura 9. Fotografías de rodajas de zanahorias sin recubrir y recubiertas sin y con aceite (control, RAM0 y RAM01) respectivamente, a los días inicial y final del almacenamiento.

Conclusiones

A partir de los resultados obtenidos se comprobó que mientras que algunas propiedades no se vieron afectadas por la incorporación de aceite, otras mostraron una relación directa con la mejora de la calidad del producto mínimamente procesado. La formulación de una emulsión estable conduce a la obtención de un film uniforme de matriz íntegra, con propiedades de afinidad por el agua y mecánicas mejoradas que permiten proteger y prolongar la vida útil de las zanahorias mínimamente procesadas refrigeradas.

4. Referencias

Barco, L. y otros cuatro autores (2011). Efecto del recubrimiento a base de almidón de yuca (Monihot esculenta Crantz) modificado sobre la maduración del tomate de mesa bajo condiciones ambientales. Colombia. Rev. Lasallista de Investigación. 8(2):96-103.

- Bravin, B. y otros dos autores. (2006). Development and application of polysaccharide-lipid edible. *Journal of Food Engineering* 76 280–290.
- Chiumarelli, M., Hubinger, M.D. (2012). Stability, solubility, mechanical and barrier properties of cassava starch e Carnauba wax edible coatings to preserve fresh-cut apples. *Food Hydrocolloids* 28 59-67.
- Dussán-Sarria, S. y otros dos autores. (2015) Cambios Físico-Químicos y Sensoriales Producidos por el Tipo de Corte y Empaque en Zanahoria (*Daucus carota* L.) Mínimamente Procesada. *Información Tecnológica – Vol. 26 N° 3* (63-70).
- Fagundes C. y otros tres autores. (2014). Effect of antifungal hydroxypropylmethylcellulose - beeswax edible coatings on gray mold development and quality attributes of cold stored cherry tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology* 92 1–8.
- García, M. A. y otros dos autores. (2000). Lipid addition to improve barrier properties of edible starch-based films and coatings. *Journal of Food Science*, 65, 941–947.
- Goñi, S. M., Salvadori, V. O. (2017). Color measurement: comparison of colorimeter vs. computer vision system. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 11(2), 538-547.
- Jagannath, J. H. y otros tres autores. (2006). Studies on the stability of an edible film and its use for the preservation of carrot (*Daucuscarota*). *International Journal of Food Science and Technology*, 41(5), 498–506.
- Jiménez, A. y otros tres autores (2012). Effect of recrystallization on tensile, optical and water vapour barrier properties of corn starch films containing fatty acids. *Food Hydrocolloids*, 26, 302-310.
- Lafuente, M. T. y otros tres autores. (1989). Isocoumarin content of carrots as influenced by ethylene concentration, storage temperature and stress conditions. *Acta Horticulturae (ISHS)*, 258, 523–534.
- Lin, D.; Zhao, Y. (2007). Innovations in the development and application of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 6: 60-75.
- Manoi K., Rizvi, S.S.H. (2010). Physicochemical characteristics of phosphorylated cross-linked starch produced by reactive supercritical fluid extrusion. *Carbohydr. Polym.*, 81, pp. 687–694.
- Morillon y otros tres autores. (2002). Factors affecting the moisture permeability of lipid-based edible films: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 42(1), 67-89.
- Ordoñez-Bolaños, D.Y. y otros cinco autores (2014). Efecto de recubrimiento de almidón de yuca modificado y aceite de tomillo aplicado al pimiento (*Capsicum annum*). *Rev. Mex. Cienc. Agríc* vol.5 no.5.
- Rhim J. W., Shellhammer T. H. (2005). Lipid-based edible films and coatings, *Innovations in Food Packaging*. 21:362-383.Souza A.C. y otros cuatro autores (2013). Cassava starch composite films incorporated with cinnamon essential oil: Antimicrobial activity, microstructure, mechanical and barrier properties. *Food Science and Technology* 54 346-352.
- Sánchez-González, L y otros cuatro autores. (2009). Characterization of edible films based on hydroxypropylmethylcellulose and tea tree essential oil. *FoodHydrocolloids*, 20, 1–8.
- Simões A.N. y otros cuatro autores. (2010). Anatomical and physiological evidence of white blush baby carrot surfaces. *Postharvest Biology and Technology*. 55: 45-52.
- Šuput, D. y otros nueve autores. (2016). Characterization of Starch Edible Films with Different Essential Oils Addition. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* Vol. 66, No. 4, pp. 277–285.
- Velickova E. y otros cuatro autores. (2013). Impact of chitosan-beeswax edible coatings on the quality of fresh strawberries (*FragariaananassacvCamarosa*) under commercial storage conditions. *LWT - Food Science and Technology* 52 (2), 80-92.

47TCA. Efecto de la fermentación sobre el potencial de panificación de almidones de mandioca y ahipa

Fermentation effect on bread-making potential of sour cassava and ahipa starches

Andrea Díaz¹, Cecilia Dini¹, Sonia Z. Viña^{1,2}, María Alejandra García¹.

1. CIDCA (Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos), Facultad de Ciencias Exactas UNLP-CONICET La Plata- CICPBA, 47 y 116 S/Nº, La Plata (B1900AJJ), Buenos Aires, Argentina. 2. Curso Bioquímica y Fitoquímica, Facultad Ciencias Agrarias y Forestales UNLP. andree.diaz@hotmail.com.

Resumen

El mercado de productos sin gluten ha experimentado un gran crecimiento en los últimos años. El almidón agrio de mandioca es un producto libre de gluten, obtenido por extracción con agua, fermentación natural y secado al sol; por tener propiedades de expansión frente a la cocción, resulta un ingrediente interesante. Por otro lado, el almidón de ahipa podría representar una novedosa alternativa al de mandioca por su baja temperatura de gelatinización y bajo contenido de amilosa.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el comportamiento del almidón de ahipa frente al proceso de fermentación y posterior secado solar o en estufa, y comparar la calidad panadera de los productos obtenidos con la del almidón de mandioca fermentado.

El almidón fermentado de ahipa mostró diferencias en las características y la calidad panadera respecto del almidón agrio de mandioca. Particularmente, el secado al sol disminuyó las propiedades de expansión de los productos horneados obtenidos a partir de los almidones fermentados de ahipa, mientras que los derivados de su almidón nativo mostraron una expansión similar a la obtenida para el almidón fermentado de mandioca.

Siendo el almidón de ahipa un ingrediente sin explotar y considerando los resultados obtenidos en este trabajo, podemos concluir que representa un nuevo e interesante ingrediente para la elaboración de productos horneados libres de gluten.

Palabras clave: almidón agrio, productos horneados, *Pachyrhizus ahipa*, *Manihot esculenta*.

Abstract

The gluten free foods market has experienced a great increase in the last years. Cassava sour starch is a gluten free product get by extraction, natural fermentation and sun-drying. Sour cassava starch results an interesting ingredient due to its expansion properties during baking. In this sense, ahipa starch could represent a novel alternative to cassava because of its low gelatinization temperature and low amylose content.

The aim of this work was to study the fermentation process followed by sun-drying or oven-drying on ahipa starch, and compare the quality of the obtained products with those from fermented cassava starch.

Ahipa starch showed differences in the characteristics and bakery quality compared to cassava sour starch. Particularly, sun-drying decreased the expansion properties of the baked products obtained from ahipa fermented starches, while its native starch showed similar expansion properties to those of fermented cassava starch.

Being ahipa starch a commercially untapped ingredient, the results obtained in this work suggest that ahipa starch represents a new and interesting ingredient for the elaboration of gluten free baked products.

Keywords: sour starch, baked products, *Pachyrhizus ahipa*, *Manihot esculenta*.

1. Introducción

Durante las últimas décadas el mercado de los productos sin gluten ha experimentado una notable

expansión a nivel mundial, y se proyecta que llegará a USD 7,59 millones en 2020, con una tasa de crecimiento anual del 10,4% (Markets&Markets, 2015).

Los almidones más utilizados en la elaboración de panificados sin gluten son los de maíz y los obtenidos de algunas raíces y tubérculos, como la papa y la mandioca (Masure *et al.*, 2016).

En Sudamérica, una alternativa a la harina de mandioca tradicional es el uso de almidón agrio. El método de obtención del mismo consiste en una extracción acuosa a partir de las raíces tuberosas de mandioca y el almacenamiento del almidón cubierto con el sobrenadante de extracción durante 20-30 días a 15-25°C; luego se retira el líquido y la torta de almidón fermentada se seca al sol (Cárdenas *et al.*, 1980; Rojas *et al.*, 1996). Éste es un ingrediente libre de gluten particularmente interesante debido a su potencial panificable en comparación con el almidón dulce o nativo (no fermentado), y las propiedades organolépticas distintivas derivadas de la fermentación láctica. Se utiliza principalmente como ingrediente básico en la fabricación de *pandebono* y *pan de yuca* en Colombia, y el *pao de queijo* en Brasil.

Muchos estudios se han centrado en el reemplazo de la fermentación natural del almidón de mandioca por la modificación con ácido láctico, pero no se alcanzó el potencial de expansión durante la cocción de los almidones fermentados naturalmente (Demiate *et al.*, 2000). Además, la exposición de los almidones fermentados a ciertas longitudes de onda UV durante el secado al sol (particularmente radiaciones UVB y UVC) conduce a la aparición de grupos carboxilo y carbonilo en las cadenas de amilosa y amilopectina (Dias *et al.*, 2011), lo que resulta esencial para mejorar su potencial panificable (Vatanasuchart *et al.*, 2005).

La fermentación natural y la modificación con ácido también se ensayaron en el almidón de maíz, que no alcanzó la calidad panadera observada en el almidón agrio de mandioca (Bertolini *et al.*, 2000). Esto se atribuyó a la temperatura de fusión de cada almidón al contenido de humedad dado, destacando que la menor temperatura de fusión del almidón de mandioca permite la formación de una fase continua a la temperatura interna de la masa durante la expansión, donde las burbujas pueden crecer (Bertolini *et al.*, 2000). Por lo tanto, la eficacia de la fermentación y del secado solar en mejorar la calidad de panadera del almidón de mandioca depende de las características de los gránulos de almidón, aunque su relación aún no se entiende completamente.

Con el fin de encontrar fuentes de almidón que puedan comportarse de forma similar a la mandioca, las raíces de ahípa (*Pachyrhizus ahípa*) representan una interesante e inexplorada alternativa, ya que es una materia prima rica en almidón y libre de gluten. Este almidón es bastante similar al de mandioca en

su bajo contenido de lípidos, temperatura de gelatinización y porcentaje de amilosa, menor que las fuentes de almidón más difundidas, como el trigo y el maíz (Forsyth *et al.*, 2002, López *et al.*, 2012). En particular, las raíces de esta leguminosa tienen contenidos elevados de proteínas y azúcares libres (sacarosa, glucosa y fructosa) en comparación con otras raíces y tubérculos comestibles (Dini *et al.*, 2013).

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la fermentación sobre el almidón de ahípa y evaluar el potencial panificable del mismo, en comparación con almidones fermentados de mandioca, obtenidos por diferentes métodos de secado (sol y estufa).

2. Materiales y métodos

3.1 Extracción y fermentación del almidón

El almidón fue extraído de las raíces de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) y ahípa [*Pachyrhizus ahípa* (Wedd.) Parodi] siguiendo un procedimiento previamente descrito (Díaz *et al.*, 2016). En resumen, las raíces se lavaron, se desinfectaron durante 10 minutos con 250 ppm de cloro, se pelaron y se cortaron en cubos pequeños. Se añadió agua (2 l por kg) y la mezcla se procesó con Minipimer®, se dejó durante 24 h a 4°C y se filtró con muselina. Se desechó el bagazo y se dejó decantar la suspensión de almidón durante 24 h a 4°C. Parte de la torta decantada se retiró y se secó en estufa a 40°C para obtener el almidón nativo extraído de mandioca (N) y ahípa (NA), respectivamente. La otra parte de la torta de almidón se dejó en contacto con su sobrenadante de decantación durante 20 días a 20°C para que ocurra la fermentación natural. Cada torta fermentada se dividió en dos partes iguales: una de ellas se secó en estufa a 40°C (FO y FOA, para mandioca y ahípa, respectivamente) durante 48 h y la otra fue secada al sol (20-25°C durante 5 días) (FS y FSA).

Todas las muestras secadas se trituraron y se tamizaron a través de un tamiz de 60 mesh. Cada proceso de fermentación se llevó a cabo por duplicado.

3.2 Caracterización de almidones fermentados

3.2.1 Índice de blancura

Se determinó la luminosidad (L^*) y los parámetros de cromaticidad (a^* y b^*) del espacio de color CIELab de los polvos de almidón usando un colorímetro CR-400 (Konica Minolta Sensing Inc., Japón) calibrado con una placa blanca estándar $Y = 93,2$, $x = 0,3133$, $y = 0,3192$. El índice de blancura (IB) de los almidones se calculó como:

$$IB = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2} \quad (1)$$

3.2.2 Análisis reológico

Se prepararon suspensiones acuosas de almidón (5% p/p) las cuales fueron gelatinizadas a 90°C durante 20 minutos y se enfriaron a temperatura ambiente. Se utilizó un reómetro Rheo Stress 600 ThermoHaake (Haake, Alemania) y un sistema sensor plato-plato PP35 con una separación entre platos de 1mm, a temperatura controlada (20°C).

Para investigar el comportamiento de flujo de las suspensiones de almidón se utilizó el modo rotacional donde se registró el esfuerzo de corte variando la velocidad de deformación desde 0 hasta 500 s⁻¹ en un lapso de 3 min, manteniendo a máxima velocidad (500 s⁻¹) durante 1 min y luego descendiendo con el mismo gradiente y tiempo.

Se calculó la viscosidad aparente a 500s⁻¹ y para evaluar la dependencia con el tiempo se determinaron los índices de tixotropía. Las curvas obtenidas se modelaron matemáticamente utilizando el modelo de la ley de la potencia.

El comportamiento viscoelástico de las pastas de almidón se estudió mediante ensayos dinámicos. Se realizaron barridos de frecuencia (de 0,01 a 100 Hz) a 1 Pa (dentro del rango de viscoelasticidad lineal). Se registraron los módulos de almacenamiento (G') y pérdida (G''), a tiempo cero y luego de pasadas las 72 h de almacenamiento refrigerado (4°C) para observar el efecto de la retrogradación.

3.3 Elaboración de masas y productos horneados

Los ingredientes utilizados para la elaboración de productos panificados fueron: almidón a ensayar, aceite de girasol Natura®, agua y queso en hebras del tipo semiduro Quesabores Sancor® variedad pategrás y provolone. Siguiendo las proporciones indicadas según Maldonado *et al.* (2013).

Se mezclaron los ingredientes mediante amasado manual hasta la unión de los mismos. Se estiró la masa y se moldeó en cilindros de 0,8 cm de alto y 2 cm de diámetro, las muestras se hornearon 20 minutos a 220°C.

3.4 Caracterización de masas crudas y productos horneados

3.4.1 Humedad y actividad acuosa (a_w)

Para medir la actividad acuosa de la masa cruda y de los panificados, las muestras fueron trituradas y

colocadas en el equipo Aqualab Pew Point Water activity Meter 4 TE (Decagon Devices, Inc., Washington, EEUU). A continuación, las muestras se pesaron y secaron a 105°C hasta peso constante para la determinación del contenido de humedad, expresado como %.

3.4.2 Análisis de textura

Los ensayos de textura se llevaron a cabo en un texturómetro TAXT2i (Stable Micro Systems Ltd., Godalming, Surrey, RU) con una celda de carga de 25 kg. Los datos adquiridos se analizaron con el software Texture Expert® (v.1.2). Las masas se cortaron en cilindros (0.8 cm de alto y 2 cm de diámetro) y se sometieron a un análisis de perfil de textura (TPA). Se comprimieron 4 mm en dos ciclos usando una sonda P75 a velocidad constante (1,0 mm s⁻¹) con un intervalo de 5 s entre ciclos. Los parámetros de textura (dureza, elasticidad, cohesividad y adhesividad) se calcularon según Andrés *et al.* (2006). La textura del producto horneado se estudió mediante un ensayo de compresión utilizando una sonda Volodykevich Bite Jaws, según Doporto *et al.* (2017). Se registró la fuerza máxima (N), el área de la curva (N mm) y el número de picos máximos (crocancia).

3.4.3 Índice de pardeamiento de los productos horneados

Se determinó el color superficial de los productos horneados registrando las coordenadas de luminosidad L*, coordenada rojo-verde a*, y coordenada azul-amarillo b* de la escala CIE, de la misma forma que en 2.2.1. A partir de estos parámetros se calculó el índice de pardeamiento (IP) que estima la pureza del color marrón (Buera *et al.*, 1985).

3.4.4 Volumen específico

El volumen de las muestras se determinó por desplazamiento de semillas de colza utilizando una probeta (250 mL) y se expresó en cm³. Previo a la determinación, las muestras se pesaron para luego calcular el volumen específico (ml/g).

3.5 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se analizaron mediante un análisis de varianza unidireccional (ANOVA) utilizando el test LSD de Fisher con un nivel de significación de 5% (p = 0,05). Se utilizó el software InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2011).

4. Resultados y discusión

4.1 Caracterización de almidones fermentados

Los almidones obtenidos presentan grandes diferencias en los parámetros de caracterización presentados en la Tabla 1.

Se observa que los valores de índice de blancura (IB) fueron mayores para los almidones de mandioca que para los de ahípa, lo que probablemente esté relacionado con el mayor contenido de proteínas y azúcares libres de esta última que podrían participar en las reacciones de pardeamiento. Además, algunos lotes de raíces ahípa tienen una pigmentación púrpura, similar a la observada para las raíces de batata, que contribuyen al oscurecimiento del almidón extraído (Díaz *et al.*, 2016). La fermentación natural no cambió significativamente ($p > 0.05$) el IB de los almidones de ahípa con respecto al almidón nativo (NA), independientemente del método de secado utilizado.

Para el almidón de mandioca, la combinación del proceso de fermentación con el secado en estufa arrojó valores de IB significativamente mayores ($p > 0.05$) al de N.

En cuanto a la caracterización reológica de las suspensiones, todas las muestras presentaron un comportamiento de tipo pseudoplástico ($n < 1$) y tixotrópico el que se ajustó satisfactoriamente al modelo de la ley de la potencia ($r > 0.9990$). Además, el proceso de fermentación provocó una disminución de los parámetros de viscosidad e índice de consistencia (k), indicando la degradación de los componentes del almidón por parte de la flora correspondiente. Cabe destacar que las suspensiones de ahípa obtuvieron valores de viscosidad y k más bajos de las de mandioca, incluso la pasta nativa. El tipo de secado no influyó sobre los parámetros en el caso de las suspensiones de mandioca pero sí en las de ahípa, en los que el secado en estufa provocó una mayor disminución en la viscosidad.

Tabla 1. Parámetros de color (IB: índice de blancura) y reológicos de almidones nativos y fermentados de ahípa y mandioca.

	IB	Viscosidad 500 s ⁻¹ (Pa s)	k	n	r ²	Tixotropía (Pa/s)
FSA	93.3 ± 1.0 ^a	0.162 ± 0.002 ^b	2.095 ± 0.005 ^a	0.585 ± 0.002 ^c	0.9991	2253 ± 118 ^b
FOA	93.8 ± 1.4 ^a	0.104 ± 0.000 ^a	2.699 ± 0.045 ^b	0.472 ± 0.002 ^a	0.9989	1229 ± 76 ^a
NA	94.2 ± 1.0 ^a	0.212 ± 0.002 ^c	4.337 ± 0.136 ^c	0.513 ± 0.005 ^b	0.9992	1093 ± 70 ^a
FS	97.4 ± 0.5 ^{ab}	0.289 ± 0.011 ^a	5.18 ± 0.26 ^a	0.5282 ± 0.0020 ^a	0.9992	6288 ± 38 ^a
FO	97.8 ± 0.81 ^b	0.319 ± 0.007 ^a	5.32 ± 0.12 ^a	0.5387 ± 0.0003 ^b	0.9991	8717 ± 625 ^b
N	96.9 ± 0.3 ^a	0.413 ± 0.011 ^b	6.62 ± 0.26 ^b	0.5451 ± 0.0018 ^c	0.9990	15470 ± 297 ^c

Los valores informados corresponden a las medias ± la desviación estándar. La comparación estadística se realizó entre grupos de filas separadas por líneas horizontales. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

En la Figura 1 se observa el porcentaje de aumento de G' de las pastas luego de 72 h de almacenamiento refrigerado a 4°C.

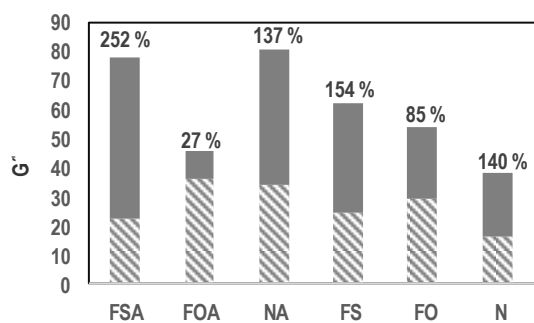


Figura 1. Porcentajes de aumento del módulo elástico (G') por efecto de la retrogradación. Barras rayadas: G' inicial. Barra llena G' luego del almacenamiento 72 h a 4°C

La pasta FSA aumentó en un 252% su G' después del almacenamiento refrigerado, mientras que el incremento de FS fue del 154%. Las respectivas pastas nativas NA y N mostraron incrementos de G' del 137% y 140%. Las pastas provenientes de almidones fermentados secados en estufa presentaron menor retrogradación que las secadas al sol.

4.2 Caracterización de las masas crudas

En el caso de la mandioca, las masas provenientes de almidones fermentados y posterior secado solar presentaron un contenido de humedad significativamente mayor ($p < 0.05$) que las provenientes de almidones nativos y de los secados en estufa, mientras que lo contrario se observó para las masas de ahípa (Tabla 2). Además, la a_w también aumentó para FS en comparación con el almidón N

y en el caso de ahípa disminuyó para los almidones fermentados (FSA y FOA) con respecto al nativo NA.

Los análisis de perfil de textura mostraron que la dureza de las masas FO aumentó significativamente ($p < 0.05$) en comparación con el almidón N, mientras que el secado al sol no afectó este parámetro. Esto está en concordancia con el aumento en el contenido de humedad de las masas derivadas de almidones fermentados sometidos a secado solar, y evidencia la importancia tanto de la fermentación como de la exposición a la luz solar para las características finales del almidón agrio. Teniendo en cuenta que la fuerza impulsora para la expansión de burbujas durante la cocción de las masas de almidón agrio de mandioca es la presión de vapor de agua (Bertolini *et al.*, 2001), un mayor contenido de humedad de las masas podría asociarse a mejores propiedades de expansión en los productos horneados.

La cohesividad de la masa no se vio alterada sustancialmente para el almidón fermentado de mandioca. Sin embargo, la fermentación natural del almidón de ahípa, seguido tanto por el secado solar o estufa, condujo a masas considerablemente menos cohesivas que el almidón nativo respectivo, y por lo tanto con menor integridad (Tabla 2).

Aunque la masa obtenida con el almidón nativo de ahípa fue más adhesiva (6,4 N mm) que la de mandioca (2,7 N mm), la fermentación (FS, FSA, FO y FOA) produjo masas con valores de adhesividad similares.

Con respecto a la elasticidad de las masas, todos los almidones ensayados exhibieron valores de 0,99-1,00 sin diferencias significativas ($p > 0,05$) entre las muestras (datos no mostrados).

Tabla 2. Resultados obtenidos en los ensayos de caracterización de las masas: contenido de humedad, a_w y parámetros texturales (dureza, cohesividad y adhesividad)

	Humedad (%)	a_w	Dureza (N)	Cohesividad	Adhesividad (N mm)
FS	39.3 ± 0.2 ^b	0.98 ± 0.00 ^b	46 ± 4 ^a	0.23 ± 0.02 ^{ab}	1.3 ± 0.4 ^a
FO	37.4 ± 0.4 ^a	0.97 ± 0.00 ^a	60 ± 10 ^b	0.27 ± 0.03 ^b	1.1 ± 0.3 ^a
N	37.8 ± 0.1 ^a	0.97 ± 0.00 ^a	42 ± 5 ^a	0.23 ± 0.02 ^a	2.7 ± 1.0 ^b
FSA	37.1 ± 0.2 ^b	0.98 ± 0.00 ^b	36 ± 3 ^b	0.22 ± 0.02 ^a	1.1 ± 0.2 ^a
FOA	36.3 ± 0.2 ^a	0.97 ± 0.00 ^a	39 ± 6 ^b	0.24 ± 0.01 ^a	1.5 ± 0.3 ^a
NA	40.8 ± 0.2 ^c	1.01 ± 0.00 ^c	14 ± 4 ^a	0.50 ± 0.05 ^b	6.4 ± 1.5 ^b

Los valores informados corresponden a las medias ± la desviación estándar. La comparación estadística se realizó entre grupos de filas separadas por líneas horizontales. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

4.3 Caracterización de los productos horneados

En la Figura 2 se observan los volúmenes específicos obtenidos para los diferentes productos horneados.

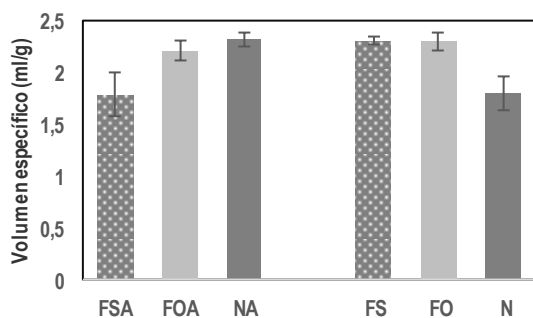


Figura 2. Volúmenes específicos de los productos horneados

Los productos derivados del almidón nativo de ahípa (NA) mostraron una mayor expansión durante la cocción ($p < 0.05$) que los obtenidos con el almidón nativo de mandioca (N). Además, la expansión de los panificados de NA no difirió ($p > 0.05$) de la de los almidones de mandioca fermentados (FS y FO). Este comportamiento se podría explicar considerando lo propuesto por Bertolini *et al.* (2001), los cuales observaron que el almidón de maíz nativo, que tiene una temperatura de fusión más alta que la de mandioca, no logró propiedades de expansión, como sí lo hizo el almidón nativo de esta última, ya que la temperatura interna de la masa no alcanza el valor de pérdida total de la estructura de los gránulos, lo que dificulta el desarrollo de la estructura alveolar que el almidón. En nuestro caso, el almidón de ahípa tiene una temperatura de gelatinización más baja ($\sim 64^\circ\text{C}$) que el de mandioca ($\sim 68^\circ\text{C}$) (Díaz *et al.*, 2016; Dini *et al.*, 2013; Dopporto *et al.*, 2014) lo que le permitiría obtener mejores propiedades de expansión frente al horneado. Maldonado Alvarado *et al.* (2013)

encontraron una correlación entre el contenido de amilosa de diversas variedades de mandioca y sus propiedades de expansión. Los resultados mostraron que los menores contenidos de amilosa conducen a mayores volúmenes específicos de productos horneados en todas las muestras analizadas (almidones nativos y fermentados, tanto secados en horno como secado al sol). En este sentido, el almidón de ahípa tiene menor contenido de amilosa (12-13%) (Doporto *et al.*, 2014) que el de mandioca (20-22%), lo que también puede estar relacionado con su mejor desempeño para el aumento de volumen durante el horneado.

Se comprobó que los productos horneados a partir de almidones agrios comerciales llegan a volúmenes de expansión entre 3,1 y 3,8 ml/g, significativamente más altos ($p < 0.05$) que los correspondientes a los productos derivados de todos los almidones obtenidos en este trabajo (72.2-111.2% más altos que aquellos del almidón de mandioca nativo). Para el caso de los almidones obtenidos en el presente trabajo no se observó efecto del tipo de secado en las propiedades de expansión de los panificados derivados de la mandioca, lo cual podría estar relacionado con la baja intensidad de la radiación durante el secado al sol (realizado en el mes de junio).

Los productos horneados obtenidos a partir de FSA, presentaron menor volumen específico que los del almidón nativo (NA), contrario a lo observado para la mandioca en las mismas condiciones de fermentación y secado (Figura 2). No obstante, el almidón de ahípa secado en estufa (FOA) no difirió del NA en su capacidad de expansión durante la cocción, por lo que la susceptibilidad a la degradación UV de esta fuente botánica podría estar involucrada en el efecto detrimental observado para el secado solar, ya que se ha informado que el grado de oxidación alcanzado depende del origen del almidón (Bertolini *et al.*, 2001). Además, esto se relaciona con la disminución marcada en el contenido de ácido láctico de los almidones fermentados de ahípa después del secado al sol (FSA) en comparación con secado en estufa (FOA) (aproximadamente 2800 ppm), con respecto a la observada para almidones fermentados de mandioca FS y FO (aproximadamente 1500 ppm), lo que indica la diferente extensión de la reacción química para ambas fuentes de almidón. Esto también se vio reflejado en los valores de G' de la pastas luego de la retrogradación, el cual aumentó en un 252% para FSA después del almacenamiento refrigerado, mientras que el incremento de FS fue del 154%.

Las diferencias en la expansión de los productos horneados de almidón de mandioca y ahípa podrían relacionarse parcialmente con las características de las respectivas masas crudas. Las masas de los

almidones fermentados de ahípa secados al sol mostraron niveles similares ($p > 0.05$) de dureza respecto a las de los respectivos almidones secados en estufa, pero produjeron panificados de menor volumen respecto a estos últimos. En el caso de mandioca, el secado al sol aumentó el contenido de humedad y redujo la dureza de las masas en comparación con las secadas en estufa, lo que puede haber contrarrestado el efecto negativo en la capacidad de expansión respecto a lo observado para ahípa, resultando en panificados de volumen similar para ambos tipos de secado. Si bien se sabe que la disminución de la dureza de las masas juega un rol en la capacidad de expansión de los productos horneados de almidón agrio de mandioca, hay claramente otros procesos involucrados, los cuales también son probablemente dependientes de la naturaleza del almidón utilizado. La dureza de la masa influye negativamente en la facilidad de formación de burbujas durante la cocción, mientras que el contenido de humedad aumenta la cantidad de vapor y la fuerza motriz para el desarrollo de burbujas (Bertolini *et al.*, 2001)

La Tabla 3 muestra el índice de pardeamiento (IP), el contenido de humedad y los parámetros de textura de los productos horneados obtenidos a partir de las diferentes muestras de almidón.

Para las muestras obtenidas en este trabajo, se observó que el proceso de fermentación bajó el IP, siendo esta tendencia más pronunciada para la mandioca que para los productos horneados ahípa. El método de secado no presentó diferencias significativas ($p > 0.05$). Además, los productos horneados provenientes de almidones de ahípa resultaron con un mayor IP que los de mandioca (Figura 3). Esto puede relacionarse con los índices de blancura obtenidos para los almidones, los cuales fueron menores para los almidones de ahípa.

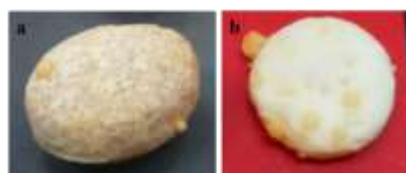


Figura 3. Productos horneados obtenidos a partir de a) almidón nativo de ahípa, b) almidón nativo de mandioca

Por otro lado, se puede observar que, aunque el contenido de humedad de las masas fermentadas fue mayor ($p < 0.05$) o similar ($p > 0.05$) que el de N, tanto los productos horneados FS como FO mostraron un contenido de humedad menor que N, indicando una mayor pérdida de agua durante la cocción, lo cual estaría relacionado con sus mejores propiedades de expansión, si consideramos que la misma se produce por la evaporación del agua

dentro de la matriz (Tabla 3). Los almidones de ahípa no siguen esta tendencia lo que una vez más refleja que este es un proceso complejo, con muchos

factores involucrados y dependiente de la naturaleza del almidón.

Tabla 3. Caracterización de los productos horneados: Contenido de humedad, a_w y parámetros texturales (Fuerza máxima, área de pico y crocancia superficial)

	IP	Humedad (%)	a_w	Fuerza máxima (N)	Área de pico (N mm)	Crocancia
FS	17.6 ± 3.0 ^a	9.2 ± 1.9 ^a	0.57 ± 0.12 ^a	89 ± 23 ^c	164 ± 58 ^b	15 ± 4 ^b
FO	18.0 ± 2.2 ^a	8.6 ± 0.4 ^a	0.57 ± 0.03 ^a	72 ± 10 ^b	155 ± 27 ^b	27 ± 9 ^c
N	25.5 ± 1.1 ^b	11.8 ± 0.6 ^b	0.69 ± 0.01 ^a	31 ± 7 ^a	84 ± 17 ^a	5 ± 4 ^a
FSA	28.9 ± 1.3 ^{ab}	10.1 ± 1.3 ^b	0.63 ± 0.02 ^b	46 ± 19 ^b	106 ± 36 ^b	17 ± 4 ^a
FOA	27.6 ± 1.3 ^a	6.4 ± 0.5 ^a	0.43 ± 0.07 ^a	81 ± 9 ^c	179 ± 41 ^c	24 ± 6 ^b
NA	29.4 ± 0.4 ^b	16.1 ± 0.8 ^c	0.81 ± 0.02 ^c	9 ± 2 ^a	31 ± 3 ^a	13 ± 7 ^a

Los valores informados corresponden a las medias ± la desviación estándar. La comparación estadística se realizó entre grupos de filas separadas por líneas horizontales. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

En cuanto a los parámetros texturales se observa un aumento de la crocancia superficial de los productos horneados a partir de almidones de mandioca fermentados en comparación con los nativos (Tabla 3).

La misma tendencia se observó para ahípa, excepto para FSA, que no resultó significativamente mayor ($p > 0,05$) que el almidón nativo NA. El tipo de secado influyó en este parámetro, tanto en mandioca como en ahípa, siendo mayor para los panificados que provienen de almidones secados en estufa.

Tanto los panificados provenientes de almidones fermentados de ahípa como de mandioca presentaron un aumento en la fuerza máxima necesaria para que la sonda quiebre la superficie del producto. En el caso de la mandioca, los valores fueron significativamente mayores ($p < 0,05$) para FS y en el caso de ahípa para FOA, reafirmando que los almidones de diferentes orígenes reaccionan de forma diferente ante las distintas condiciones de secado. La misma tendencia se observa para los valores de área de pico, indicando que la energía necesaria para cortar la muestra es mayor para los productos horneados provenientes de FS y FOA, lo cual se puede relacionar con un aumento en la gomosidad del producto.

5. Conclusiones

Los almidones nativos de ahípa y de mandioca comparten características comunes tales como bajo contenido de lípidos, temperatura de gelatinización y porcentaje de amilosa, con respecto a los de cereales tradicionales. Sin embargo, se pudo comprobar que frente a un proceso de fermentación natural seguido de un secado solar, sus propiedades luego de la cocción son sustancialmente diferentes.

El secado al sol es un paso esencial para la calidad panadera del almidón agrio, mientras que resultó ser perjudicial para las propiedades de expansión de los productos horneados obtenidos a partir de almidón ahípa fermentado. Por otro lado, el proceso de fermentación no mejoró la expansión durante la cocción del almidón de ahípa.

El almidón de ahípa nativo se comportó de manera similar a los almidones de mandioca fermentados obtenidos en este trabajo, lo que podría representar una alternativa simple y de fácil implementación en relación al almidón agrio de mandioca.

6. Referencias

- Maldonado Alvarado, P.; Grosmaire, L.; Dufour, D.; Giraldo Toro, A.; Sánchez, T.; Calle, F.; Moreno Santander, M.A.; Ceballos, H.; Delarbre, J.L.; Tran, T. (2013). *Combined effect of fermentation, sun-drying and genotype on breadmaking ability of sour cassava starch*, Carbohydrate Polymers, 98(1), 1137-1146.
- Andrés, S.; Zaritzky, N.; Califano, A. (2006). *The effect of whey protein concentrates and hydrocolloids on the texture and colour characteristics of chicken sausages*, International Journal of Food Science & Technology, 41(8), 954-961.
- Bertolini, A.C.; Mestres, C.; Colonna, P. (2000). *Rheological Properties of Acidified and UV-Irradiated Starches*. Starch - Stärke, 52(10), 340-344.
- Bertolini, A.C.; Mestres, C.; Lourdin, D.; Valle, G.D.; Colonna, P. (2001). *Relationship between thermomechanical properties and baking expansion of sour cassava starch (Polvilho azedo)*, Journal of

the Science of Food and Agriculture, 81(4), 429-435.

Bertolini, A.C.; Mestres, C.; Raffi, J.; Buléon, A.; Lerner, D.; Colonna, P. (2001). *Photodegradation of Cassava and Corn Starches*, J Agric Food Chem, 49(2), 675-682.

Buera, M.P.; Lozano, R.D.; Petriella, C. (1985). *Definition of color in the non-enzymatic browning process*, Die Farbe, 32/33, 316-326.

Cárdenas, O.S.; de Buckle, T.S. (1980). *Sour cassava starch production: a preliminary study*, Journal of Food Science, 45(6), 1509-1512.

Demiante, I.M.; Dupuy, N.; Huvenne, J.P.; Cereda, M.P.; Wosiacki, G. (2000). *Relationship between baking behavior of modified cassava starches and starch chemical structure determined by FTIR spectroscopy*, Carbohydrate Polymers, 42(2), 149-158.

Di Rienzo, J.A.; Casanoves, F.; Balzarini, M.G.; Gonzalez, L.; Tablada, M.; Robledo, C.W. (2011). InfoStat. [programa de cómputo].

Dias, A.R.G.; Zavareze, E.d.R.; Elias, M.C.; Helbig, E.; da Silva, D.O.; Ciacco, C.F. (2011). *Pasting, expansion and textural properties of fermented cassava starch oxidised with sodium hypochlorite*, Carbohydrate Polymers, 84(1), 268-275.

Díaz, A.; Dini, C.; Viña, S.Z.; García, M.A. (2016). *Starch extraction process coupled to protein recovery from leguminous tuberous roots (Pachyrhizus ahipa)*, Carbohydrate Polymers, 152, 231-240.

Dini, C.; Doporto, M.C.; García, M.A.; Viña, S.Z. (2013). *Nutritional profile and anti-nutrient analyses of Pachyrhizus ahipa roots from different accessions*, Food Research International, 54(1), 255-261.

Doporto, M.C.; Dini, C.; Viña, S.Z.; García, M.A. (2014). *Pachyrhizus ahipa roots and starches: Composition and functional properties related to their food uses*, Starch - Stärke, 66(5-6), 539-548.

Doporto, M.C.; Sacco, F.; Viña, S.Z.; García, M.A. (2017). *Quality and technological properties of gluten-free biscuits made with Pachyrhizus ahipa flour as a novel ingredient*, Food and Nutrition Sciences, 8, 70-83.

Forsyth, J.L.; Ring, S.G.; Noel, T.R.; Parker, R.; Cairns, P.; Findlay, K.; Shewry, P.R. (2002).

Characterization of Starch from Tubers of Yam Bean (Pachyrhizus ahipa), Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(2), 361-367.

López, O.V.; García, M.A. (2012). *Starch films from a novel (Pachyrhizus ahipa) and conventional sources: Development and characterization*, Materials Science and Engineering: C, 32(7), 1931-1940.

marketsandmarkets.com. (2015). *Gluten-Free Products Market by Type (Bakery Products, Pizzas & Pastas, Cereals & Snacks, Savories, and Others), Source (Oilseeds & Pulses, Rice & Corn, Dairy & Meat Products, and Other Crops), & by Region - Global Trends & Forecast to 2020* Retrieved August, 7th, 2017, from <http://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/gluten-free-products-market-738.html>

Masure, H.G.; Fierens, E.; Delcour, J.A. (2016). *Current and forward looking experimental approaches in gluten-free bread making research*; Journal of Cereal Science, 67, 92-111.

Rojas, O.; Torres, P.; Alazard, D.; Farinet, J.-L.; Cardoso, M.C.Z. (1996). *Cassava starch extraction: a typical rural agroindustry with a high contamination potential*. Paper presented at the International Meeting on Cassava Flour and Starch, Cali, Colombia. Communication sans actes retrieved from <http://agritrop.cirad.fr/388658/>

Vatanasuchart, N.; Naivikul, O.; Charoenrein, S.; Sriroth, K. (2005). *Molecular properties of cassava starch modified with different UV irradiations to enhance baking expansion*, Carbohydrate Polymers, 61(1), 80-87.

48TCA. Cinética de Hidrólisis empleando Polvo de Ricino como Biocatalizador.

Hydrolysis Kinetic using Castor Bean Powder as Biocatalyst.

Florencia Salaberría¹, Camila Palla¹, María Elena Carrín¹.

1. Planta Piloto de Ingeniería Química (PLAPIQUI, UNS-CONICET), Departamento de Ingeniería Química (DIQ) - Universidad Nacional del Sur (UNS) - Camino La Carrindanga Km 7, Bahía Blanca, Argentina. mcarrin@plapiqui.edu.ar

Resumen

El presente trabajo estudia la reacción de hidrólisis enzimática utilizando polvo lipásico de semillas de ricino como biocatalizador. Se determinó la cinética de reacción con el objetivo de evaluar la evolución de la producción de ácidos grasos libres (AGL) para tiempos de reacción entre 0,5 y 48 h, empleando técnicas de CGL para su cuantificación. Se evaluó el efecto de la temperatura (30-50 °C) y la concentración de catalizador (0,0137-0,0274 g) en un volumen de reacción de 5 mL conformado por aceite de girasol alto oleico y buffer de fosfato (pH 4,5) en una relación 1:1 (v/v). La concentración máxima de AGL luego de alcanzar el equilibrio fue aproximadamente 80 % (p/p) para 30 y 37 °C, detectando inactivación térmica a 45 y 50 °C. Las concentraciones más bajas de catalizador permitieron detectar la posible existencia de una inactivación parcial del mismo al utilizar 37 °C, efecto que desaparece al incrementar su concentración. Finalmente, se utilizó un modelo de regresión no lineal de tipo Michaelis-Menten, el cual permitió obtener regresiones que lograron representar satisfactoriamente a los puntos experimentales para cada condición, lo que permitiría comparar parámetros cuantitativos representativos del caso en estudio con otros sistemas de reacción.

Palabras clave: lipasa de ricino, hidrólisis enzimática, cinética de reacción.

Abstract

The present work studies the enzymatic hydrolysis reaction using lipase powder of castor bean seeds as a biocatalyst. The reaction kinetics was determined in order to evaluate the evolution of the production of free fatty acids (FFA) for reaction times between 0.5 and 48 h, using GLC techniques for their quantification. The effect of temperature (30-50 °C) and catalyst concentration (0.0137-0.0274 g) was evaluated using a reaction volume of 5 mL composed of high oleic sunflower oil and phosphate buffer (pH 4.5) in a 1:1 (v/v) ratio. The maximum concentration of FFA after reaching equilibrium was approximately 80% (w/w) at 30 and 37 °C, detecting thermal inactivation at 45 and 50 °C. At low catalyst concentration and 37 °C, results would indicate that there is also a partial inactivation of powder, but this effect disappeared when increasing its concentration. Finally, a non-linear regression model (Michaelis-Menten type) was applied, allowing to obtain regressions that satisfactorily represented the experimental points for each condition, which would enable to compare quantitative parameters representative of each case with other reaction systems.

Keywords: castor bean lipase, enzymatic hydrolysis, reaction kinetics.

1. Introducción

Las lipasas o triacilglicerol acilhidrolasas (E.C. 3.1.1.3) son enzimas de gran importancia que catalizan la hidrólisis de triacilgliceroles (TAG) produciendo diacilgliceroles (DAG), monoacilgliceroles (MAG), glicerol y ácidos grasos libres (AGL) en la interfase entre fases acuosas y orgánicas. La reacción es reversible y algunas lipasas pueden catalizar la esterificación y transesterificación bajo condiciones de baja concentración de agua. La síntesis de ésteres mediada por lipasas se ha discutido en numerosas investigaciones en los últimos años reconociendo a las mismas como una alternativa valiosa para la modificación y posterior incorporación de compuestos lipídicos a diversos productos industriales. En la naturaleza, las lipasas se encuentran en todos los organismos vivos y son indispensables para la descomposición biológica de los lípidos, por lo que las mismas pueden tener origen animal, microbiano o vegetal. Debido a que las lipasas más abundantes y estudiadas provienen de bacterias, hongos y levaduras, la información disponible sobre las lipasas vegetales aún es limitada en comparación con las primeras (Salleh *et al.*, 2006).

En relación a la cinética enzimática, los experimentos tradicionales utilizados involucran ensayos en donde se varía la concentración de sustrato (S) al mismo tiempo que se mide la velocidad inicial de la reacción (a tiempos cortos) manteniendo constante el resto de las variables. A partir de esto, es posible obtener parámetros característicos de la cinética utilizando modelos como el propuesto por Michaelis-Menten, entre otros (Segel, 1993). Hasta el momento, se han reportado numerosos trabajos que determinan estos parámetros característicos, tanto para lipasas de origen animal y microbiano, como, en mucha menor proporción, vegetal (Hasan *et al.*, 2009; Christiansen *et al.*, 2010). Dentro de estas últimas se pueden mencionar las lipasas de germen de trigo, de granos de café y de semillas de laurel y ricino, entre otras (Muto y Beevers, 1974; Jing *et al.*, 2003; Isbilir *et al.*, 2008; Patui *et al.*, 2014).

Además del enfoque tradicional, la cinética también puede analizarse en cuanto a la producción del compuesto de interés en relación al tiempo de reacción. Existen diferentes trabajos que consideran la evolución de la hidrólisis de aceite en el tiempo utilizando lipasa proveniente de semillas de ricino (Hills y Beevers, 1987; Lin, 1986; Avelar *et al.*, 2013; Bressani *et al.*, 2014). Los tiempos de reacción empleados en estas investigaciones son relativamente cortos (2,5 h máximo), y si bien en algunos casos se alcanzan niveles elevados de hidrólisis, el análisis de la cinética es netamente

experimental y no involucra el modelado matemático de los datos. Hasta el momento, no se tiene conocimiento de la existencia de bibliografía que proponga el modelado matemático y análisis de parámetros para la reacción de hidrólisis empleando biocatalizadores obtenidos de la semilla de ricino, ni de ninguna otra planta, con la excepción de semillas de Vernonia (Pierce *et al.*, 1997).

El objetivo general del presente trabajo fue profundizar en el estudio de la evolución de la producción de ácidos grasos libres (AGL), considerando tiempos de reacción cortos y largos, empleando polvo lipásico de semillas de ricino (PL) a diferentes temperaturas y concentraciones de PL. Posterior al estudio experimental, se prosiguió con el modelado matemático de dichas curvas de acuerdo a dos propuestas diferentes: modelado empírico y modelado basado en primeros principios. Como objetivo específico se planteó desarrollar un modelo matemático empírico que permita la representación de los datos experimentales.

2. Materiales y métodos

Materiales: Todos los polvos analizados fueron obtenidos a partir de semillas de ricino ornamental. Durante el periodo de estudio las semillas fueron almacenadas a 3°C y en ausencia de luz. Otros reactivos empleados fueron: mezcla de ácido palmítico y esteárico, pureza 49-54% y 40-51% respectivamente (Fluka), estándares (1,2,3-trihexadecenoil-G, 1,2,3-trioctadecenoil-G, 1,2,3-tridecanoil-G, 1,3-ipalmitoil-rac-G, 1-monopalmitoil-rac-G, ácido octadecenoico, y tetradecano, pureza mayor a 98%) y N-metil -N-trimetilsililtrifluoroacetamida (MSTFA, Fluka) proporcionados por Sigma-Aldrich (EE.UU.). El aceite de girasol alto oleico marca Ecoop se adquirió en un comercio local (Cooperativa Obrera Lda. de Consumo y Vivienda, Bahía Blanca, Argentina). Se empleó piridina marca J.T. Baker (Philipsburg, EE.UU.) y glicerol marca Anedra. Se utilizaron gases y solventes de grado analítico o cromatográfico.

Acondicionamiento de las semillas: en todos los casos se realizó una selección minuciosa de las semillas descartando aquellas que presentaron signos de deterioro. Las semillas fueron peladas manualmente y el tegumento marrón de las semillas fue retirado.

Preparación del polvo lipásico de ricino (PL): Las semillas peladas (23 g) fueron molidas con una licuadora de mano, en presencia de acetona fría (100 mL) y sobre un baño de hielo durante 5 minutos. La

extracción del aceite para la obtención del polvo se realizó empleando una relación de 5 mL de acetona por cada 1 g de semilla molida (Avelar *et al.*, 2013). La mezcla se colocó a $2\pm 1^\circ\text{C}$ con agitación constante durante 16 h, se filtró en un embudo Büchner con papel de filtro y se realizaron 4 lavados empleando un total de 100 mL de acetona fría adicional. El material sólido obtenido se colocó de forma disgregada en un recipiente de vidrio de base amplia (destapado) y se mantuvo en heladera antiexplosiva hasta el día siguiente con el objetivo de evaporar por completo el solvente (Avelar *et al.*, 2013). Luego, se utilizó un mortero para homogenizar el tamaño de partícula y se colocó el polvo (PL) dentro de un frasco color caramelo que fue conservado en el freezer hasta su uso.

Cinética de reacción: se analizó el efecto de la temperatura y la concentración de PL sobre las curvas de cinética. Las diferentes temperaturas (30, 37, 45 y 50°C) se evaluaron utilizando un medio de reacción compuesto por 2,5 mL de aceite de girasol alto oleico y 2,5 mL de buffer de acetato (pH 4,4), empleando 0,0137 y 0,0274 g de PL. Los tiempos de reacción fueron diferentes de acuerdo a la temperatura; en todos los casos se evaluó la reacción a 0,5 y 24 h, pero para las temperaturas de 30 y 37°C también se emplearon tiempos de 1,5, 3, 12 y 48 h. En todos los casos la reacción se frenó adicionando 5 mL de etanol. En los blancos de reacción, el aceite fue incorporado después de adicionar el etanol.

Recuperación de subproductos de hidrólisis: Se realizó una extracción con solvente con el fin de obtener una muestra pura de los productos de reacción (fase lipídica). A cada muestra se agregaron 5 ml de hexano y éter etílico (1:1 v/v). Después de un minuto de agitación manual vigorosa, las muestras se centrifugaron a 3000 rpm durante 2 minutos. La fase superior se recolectó en una botella marrón de tapa roscada. Esta extracción se realizó dos veces por muestra. La botella marrón se colocó bajo una corriente de nitrógeno hasta que se alcanzó un peso constante.

Determinación de subproductos mediante GLC: Los AGL, MAG y DAG se cuantificaron mediante cromatografía gaseosa (Pacheco *et al.*, 2014) utilizando un cromatógrafo serie 4890D (Agilent, Hewlett-Packard) equipado con un FID. Se utilizó una columna capilar metálica (MXT - 65TG, 30 m x 0,25 mm x 0,1 m de espesor de película (Restek, Bellefonte, EE.UU.). El inyector se usó en modo split (relación 1:70) y se mantuvo a 360°C . La temperatura del detector fue constante e igual a 380°C . La temperatura del horno fue programada a 40°C durante 4 min, luego de 40°C a 350°C a una velocidad de $15^\circ\text{C}/\text{min}$ y finalmente a 360°C a una velocidad de $0,2^\circ\text{C}/\text{min}$. Se utilizó hidrógeno como

gas carrier a una velocidad lineal de 33,6 cm/s. El análisis se llevó a cabo identificando la cantidad total de FFA, MAG y DAG individualmente. El método del estándar interno se utilizó para cuantificar los subproductos, siendo tetradecano y tricaprina los estándares internos utilizados para FFA, y MAG y DAG, respectivamente. La adquisición de datos y la integración de picos se llevó a cabo utilizando el software HP 3398A GLC Chemstation.

Modelado matemático: basado en la observación cualitativa del comportamiento de las curvas experimentales obtenidas, se adoptó una representación de tipo Michaelis-Menten (Ecuación 1), donde la concentración de sustrato del modelo original es reemplazada por el tiempo de reacción y la velocidad por la variable de interés (AGL%). El software empleado para realizar el ajuste fue OriginPro.

$$AGL\% = \frac{A t}{B + t} \quad (1)$$

Análisis estadístico: El análisis estadístico de las curvas ajustadas fue realizado aplicando el test de falta de ajuste. Dicho test evalúa si el modelo planteado es adecuado o no para representar los datos empíricos. Un valor de p inferior a 0,05 indica que existen evidencias suficientes de que el ajuste no es bueno, mientras que un p elevado indicará lo contrario (no existen evidencias para descartar el modelo propuesto). Las comparaciones de medias se realizaron con la prueba t, donde un valor $p < 0,05$ indica diferencias significativas entre muestras.

3. Resultados y Discusión

Datos experimentales

Basándonos en estudios preliminares (datos no publicados) se determinó que el PL podría asumirse como el factor limitante bajo las condiciones de reacción ensayadas. Esto significa que el área interfacial se encontraría en exceso, lo que permitiría evaluar verdaderamente el efecto de un incremento en la concentración de PL. Si ambas interfases se encontraran saturadas y no existiera ninguna otra interacción o efecto negativo, entonces sería de esperar que la velocidad de reacción sea la misma para ambas concentraciones de PL. Las temperaturas (30, 37, 45 y 50°C) fueron elegidas en base a diferentes fuentes bibliográficas (Cavalcanti *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2013) en donde se reportan diferentes rangos óptimos para el uso de polvo de ricino. Luego de realizar las reacciones se registraron los resultados y se obtuvieron diferentes curvas del %AGL en función del tiempo. Los

comportamientos generales esperados que pueden deducirse de forma lógica en base a los fundamentos de las reacciones enzimáticas (Segel, 1993) son los siguientes:

Efecto de la temperatura: En primer lugar, al incrementar la temperatura de la reacción, se esperaría que la producción de AGL se incremente ya que se favorece el movimiento molecular, aumentando la posibilidad de que el sustrato y el catalizador se encuentren. En segundo lugar, al utilizar enzimas, se debe contemplar que su naturaleza proteica la vuelve sensible a la temperatura, por lo que la misma no puede incrementarse de forma arbitraria.

Efecto de la concentración de PL: Por un lado, al aumentar la concentración de PL, en donde PL es el factor limitante, se espera observar un incremento en el valor de la pendiente (%AGL vs t) que correspondería a los tiempos de reacción más cortos. Dicha pendiente se denomina velocidad inicial de reacción. Por otro lado, a pesar de lo anterior, se espera que el equilibrio final de la reacción sea el mismo, asumiendo que un incremento de PL solo reduciría el tiempo en el que se alcanza dicho equilibrio. De no ser así, se podría sospechar que existe otro fenómeno que interfiere.

Las curvas obtenidas se muestran en las Figuras 1, 2 y 3, las cuales deben ser analizadas en conjunto. Como observación inmediata, se puede mencionar que independientemente de la concentración de polvo, las temperaturas superiores a 45 °C no son favorecedoras para la acción lipásica, inactivando en gran medida a la lipasa presente en el polvo, durante todo el rango de tiempo estudiado. Esto está de acuerdo con Cavalcanti *et al.* (2007) quienes reportaron actividad máxima a 30 °C para diferentes genotipos de ricino. A su vez, se contraponen con lo reportado por Santos *et al.* (2013) quienes encontraron 50 °C como temperatura óptima. Por este motivo, a continuación, se le dará mayor importancia a la discusión de los resultados obtenidos para 30 y 37 °C.

En primer lugar, se analizará el efecto de la temperatura. En la Figura 1 se puede observar que para tiempos cortos de hasta 1,5 h las curvas de cinética se comportan de acuerdo a lo esperado. Para describirlo mejor se pueden comparar las pendientes de las regresiones lineales, donde se puede observar que una mayor temperatura se corresponde con una mayor pendiente (o velocidad de reacción inicial, v) para ambas concentraciones de PL. En esta figura también se puede apreciar que, al trazar las líneas de tendencia, no se obtienen buenas representaciones de los datos experimentales a 0,5 h de reacción. Esto indica que, entre 0,5 y 1,5 h, la producción de AGL no es exactamente proporcional al tiempo de

reacción, aunque a fines prácticos se podría considerar que el cálculo de la actividad específica promedio (mmolAGL/h·gAceite·gPL) sería una medida aceptable y representativa para comparar muestras obtenidas con distintas condiciones de reacción a tiempos cortos.

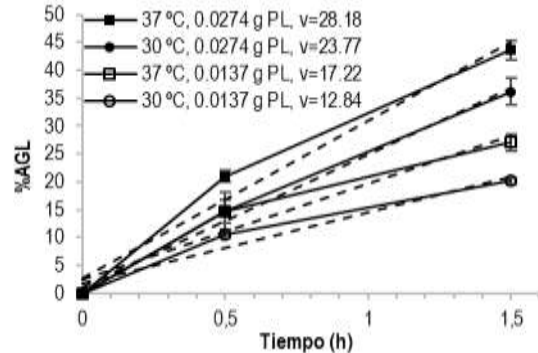


Figura 1. Curvas de cinética a 30 y 37 °C hasta 1,5 h de reacción para ambas concentraciones de PL. La letra v (%AGL/h) indica el valor de la pendiente de la regresión lineal (- - -) de cada condición.

Por el contrario, al extendernos en el tiempo (Figuras 2 y 3), se puede observar fácilmente que los comportamientos de las curvas a 30 y 37 °C difieren entre sí, dependiendo de la concentración de PL utilizada. Si bien para 0,0137 g PL se obtuvieron diferencias marcadas en el equilibrio final entre las curvas a diferentes temperaturas ($p < 0,001$), al utilizar 0,0274 g PL este efecto ya no fue visible.

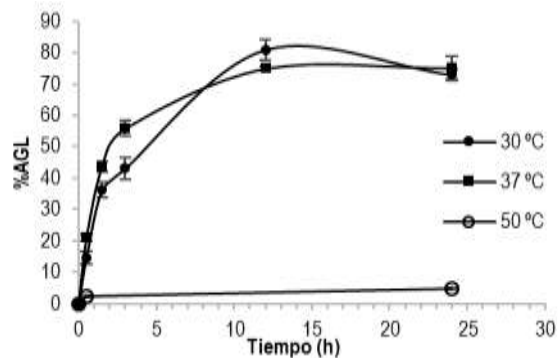


Figura 2. Curvas de cinética obtenidas a 30, 37 y 50 °C utilizando 0,0274 g PL.

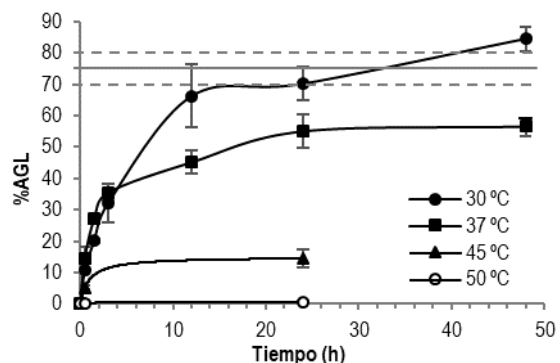


Figura 3. Curvas de cinética obtenidas a 30, 37, 45 y 50 °C utilizando 0,0137 g PL. La línea horizontal continua (—) representa el equilibrio final alcanzado con 0,0274 g PL para 30 y 37 °C (promedio de 12 y 24 h en conjunto), mientras que las líneas punteadas (- - -) indican el desvío estándar de dicho valor.

Existen diferentes hipótesis que podrían justificar estos resultados. La primera de ellas (Hipótesis A), se basa en la suposición de que la diferencia entre los equilibrios alcanzados con la menor concentración de PL (Figura 3) podrían ser el resultado de una posible inactivación térmica del PL a 37 °C. Esta hipótesis conduce a la siguiente pregunta: ¿Por qué al utilizar una mayor concentración de PL (Figura 2) las curvas a 30 y 37 °C son tan similares? Una respuesta a esto podría ser que, al existir una mayor cantidad de PL al inicio de la reacción, el mismo alcanzaría a hidrolizar el aceite antes de inactivarse. A su vez, la posible existencia de un efecto de “autoprotección” de parte del mismo polvo tampoco debería ser descartado. Si bien este fenómeno no fue investigado en mayor profundidad, el mismo podría ser evaluado utilizando diferentes concentraciones de PL en condiciones de saturación de la interfase. En base a la similitud de las curvas a 30 y 37 °C de la Figura 2 y al observar que el efecto de la inactivación no fue detectado al utilizar 0,0274 g PL, se podría asumir que el equilibrio final de la reacción para estas condiciones no estuvo afectado por la inactivación. Esto a su vez sugeriría que las constantes cinéticas de la reacción de producción de AGL no se verían afectadas dentro del rango entre 30-37 °C.

La segunda hipótesis (Hipótesis B) se obtiene asumiendo que las diferencias alcanzadas en el equilibrio de la Figura 3 son producto del efecto de la temperatura sobre las constantes de reacción cinética, y no debido a la inactivación térmica del LP. Esta situación sería la menos probable ya que la mayoría de las reacciones químicas evolucionan más rápido a medida que se incrementa la temperatura (Segel, 1993). Como se puede observar, este no es el caso ya que la curva de 30 °C resultó superior a la de 37 °C. A su vez, al analizar la Figura 2, no se encontró una explicación lógica para justificar la similitud de las curvas obtenidas a ambas temperaturas. Por este motivo, esta hipótesis será descartada y se considerará a la Hipótesis A como la más probable.

En cuanto al efecto de la concentración de PL, se puede mencionar que para tiempos cortos de reacción los comportamientos fueron los esperados. En otras palabras, la Figura 1 permite observar que, si se compararan datos con igual temperatura de reacción, se observa que la pendiente de la recta (v) aumenta al incrementar la concentración de PL. Cuando se analizan los equilibrios finales de

reacción, se observó que si bien para 0,0274 g PL y 30 °C (Figura 2) se alcanza el mismo valor final que al utilizar 0,0137 g de PL (30 °C) (Figura 3), esto no sucede cuando se observan los resultados para dichas cantidades de PL a 37 °C. Una vez más, esta diferencia podría ser atribuida a la inactivación térmica, lo que resulta consistente con la Hipótesis A planteada anteriormente. Por otro lado, la similitud del equilibrio final de las curvas a 30 °C luego de 24 h podría estar indicando que se trata del equilibrio real de la reacción sin efectos de la inactivación térmica.

Cuando se determina la temperatura óptima, no basta con analizar la velocidad inicial de reacción debido a que la temperatura óptima depende del tiempo de reacción transcurrido. Segel (1993) menciona que la temperatura óptima real de la reacción es aquella que mantiene una relación lineal entre la cantidad de producto y el tiempo que dura la misma. A pesar de lo sugerido por dicho autor, se debe considerar que dicha linealidad no es fácil de observar, ya que depende de múltiples variables como la concentración de sustrato o posibles inhibiciones e/o inactivación, entre otros. En los experimentos realizados en este trabajo, los periodos lineales no fueron sostenidos en el tiempo sugiriendo que deberían realizarse ensayos a menor temperatura. De todas formas, dentro de los experimentos realizados, se puede identificar que la temperatura óptima para el PL resultó ser 30 °C, lo que sería favorable desde el aspecto industrial ya que reduciría los requerimientos energéticos de calefacción, aunque también debería considerarse un posible incremento en el requerimiento energético asociado a la agitación debido a la escasa reducción de la viscosidad de la mezcla. Es importante resaltar que, como se mencionó anteriormente, la concentración de enzima utilizada junto con una proporción elevada de aceite:agua (1:1) favorece la insaturación del área interfacial manteniendo al PL como factor limitante. Esto quiere decir que la lipasa se encontraría “cómoda” bajo las condiciones estudiadas, lo que disminuiría el posible efecto negativo causado por el uso de temperaturas más bajas (incremento en viscosidad del aceite, y por lo tanto, disminución del área interfacial).

Modelado matemático

El modelado basado en datos, obtenido mediante una regresión no lineal utilizando la Ecuación 1, permitió obtener las ecuaciones explícitas que describen el comportamiento de los datos experimentales. La falta de ajuste no fue significativa en ninguna regresión, indicando que el modelo elegido es apropiado (Tabla 1).

Tabla 1. Parámetros de los modelos \pm desvío estándar para cada condición experimental y valores p obtenidos en la prueba de falta de ajuste.

Muestra	Parámetros		Valor p
	A	B	
30°C-0.0137gPL	90,85 \pm 3,57	5,14 \pm 0,77	0,4561
37°C-0.0137gPL	56,66 \pm 1,62	1,71 \pm 0,22	0,1697
30 °C-0.0274gPL	86,45 \pm 3,84	2,37 \pm 0,37	0,0870
37 °C-0.0274gPL	81,04 \pm 1,20	1,33 \pm 0,08	0,2579

Los valores de los parámetros para cada condición también se muestran en la Tabla 1 mientras que las regresiones junto con los datos experimentales pueden observarse gráficamente en la Figura 4.

Por último, la Figura 5 resume las curvas obtenidas para todas las muestras y ayuda a analizar los resultados presentados en la Tabla 1. Los mismos están en concordancia con el análisis de los datos experimentales descrito anteriormente. Se puede observar que el parámetro A correspondiente a 37 °C y 0,0137 g PL es el único valor que presenta mayores diferencias con respecto a los otros valores, reflejando el resultado de una posible inhibición térmica cuando se utiliza baja concentración de lipasa. Por otro lado, con el parámetro B puede apreciarse que en ausencia de inhibición (30°C), al duplicar la cantidad de enzima se disminuye en forma proporcional el tiempo necesario para alcanzar la mitad de %AGL máximo. En cambio, a 37°C el fenómeno de inhibición térmica queda enmascarado por la duplicación de la carga enzimática.

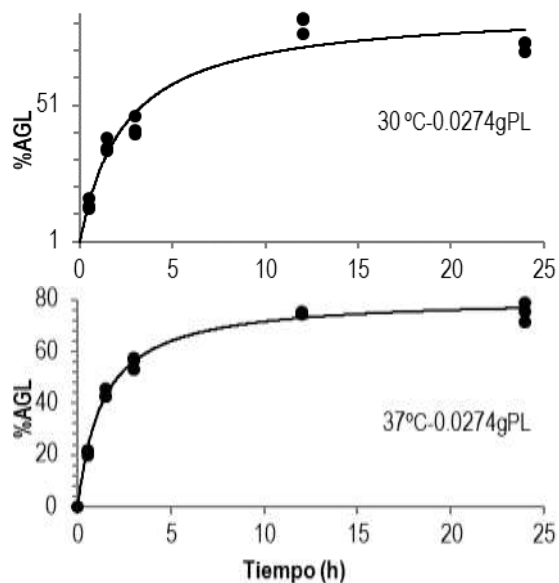
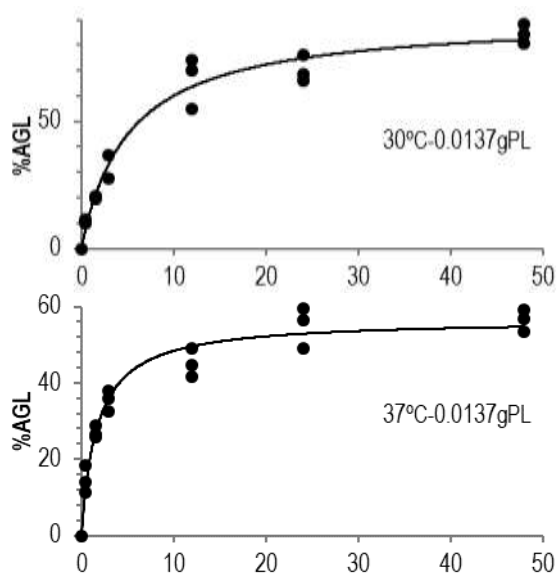


Figura 4. Curvas de cinética a 30 y 37 °C, utilizando 0,0137 y 0,0274 g PL. La línea continua representa el modelo matemático obtenido con la Ecuación 1.

Se debe recordar, que las constantes obtenidas ya no poseen una representación física en relación a la reacción, sino que solo se utiliza la estructura matemática para representar los datos. Por este motivo, no es necesario asumir ninguna hipótesis sobre el equilibrio o las constantes de reacción. El planteo de este tipo de modelos permite obtener de forma relativamente sencilla parámetros cuantitativos representativos del caso en estudio y su comparación con otros sistemas de reacción.

4. Conclusiones

Independientemente de la concentración de polvo, las temperaturas superiores a 45 °C no resultaron favorecedoras para la acción lipásica, inactivando en gran medida a la lipasa presente en el polvo, durante todo el rango de tiempo estudiado. Al utilizar 30 y 37 °C en las curvas de cinética a tiempos de hasta 1,5 h, se observó que una mayor temperatura se corresponde con una mayor velocidad de reacción inicial para ambas concentraciones de PL. Por el contrario, al extendernos en el tiempo, se observó que los equilibrios finales en las cinéticas a 30 y 37 °C dependerían de la concentración de PL utilizada, observando una disminución del equilibrio final al emplear bajas concentraciones a 37 °C. Posiblemente este fenómeno podría ser el resultado de una inactivación térmica del PL a 37 °C. Por otro lado, al emplear el doble de PL el mismo alcanzaría a hidrolizar el aceite antes de inactivarse a 37 °C; incluso la posible existencia de un efecto de “autoprotección” de parte del mismo polvo no debería ser descartada.

En base a esto, las constantes cinéticas de la reacción asociadas a la producción de AGL no se

verían afectadas dentro del rango entre 30-37 °C. Finalmente, la temperatura óptima para el PL resultó ser 30 °C, lo que sería favorable desde el aspecto industrial ya que reduciría los requerimientos energéticos de calefacción, aunque también debería considerarse un posible incremento en el requerimiento energético asociado a la agitación.

En cuanto al modelado matemático, se obtuvieron modelos basados en datos que lograron representar satisfactoriamente a los puntos experimentales para cada condición, utilizando un modelo de tipo Michaelis-Menten, el cual permitiría comparar de forma relativamente sencilla parámetros cuantitativos representativos del caso en estudio y su comparación con otros sistemas de reacción.

5. Referencias

- Avelar, M.H.M. y otros 5 autores, (2013). *Hydrolysis of Vegetable Oils Catalyzed by Lipase Extract Powder from Dormant Castor Bean Seeds*, Industrial Crops and Products, 44:452–458.
- Bressani A.P.P. y otros 3 autores (2014). *Production of Alkyl Esters from Macaw Palm Oil by a Sequential Hydrolysis/esterification Process Using Heterogeneous Biocatalysts: Optimization by Response Surface Methodology*, Bioprocess and Biosystems Engineering, 38:287–97.
- Cavalcanti, E.D.C. (2007). *Acetone Powder from Dormant Seeds of Ricinus Communis L: Lipase Activity and Presence of Toxic and Allergenic Compounds*, Applied Biochemistry and Biotechnology, 7:136–140.
- Christiansen A.; Backensfeld T.; Weitschies W. (2010). *Effects of Non-Ionic Surfactants on in Vitro Triglyceride Digestion and Their Susceptibility to Digestion by Pancreatic Enzymes*, European Journal of Pharmaceutical Sciences, 41(2):376–82.
- Hasan F.; Aamer A.S.; Abdul H. (2009). *Methods for Detection and Characterization of Lipases: A Comprehensive Review*, Biotechnology Advances, 39(1):13-20.
- Hills, M.J.; Beevers H. (1987). *An Antibody to the Castor Bean Glyoxysomal Lipase (62 kD) Also Binds to a 62 kD Protein in Extracts from Many Young Oilseed Plants*, Plant Physiology, 85:1084–88.
- Isbilir S.S.; Hakki M.O.; Hulya Y., (2008). *Some Biochemical Properties of Lipase from Bay Laurel (Laurus Nobilis L.) Seeds*, Journal of the American Oil Chemists' Society, 85:227–33.
- Jing F.; Xueqin A.; Weiguo S. (2003). *The Characteristics of Hydrolysis of Triolein Catalyzed by Wheat Germ Lipase in Water-in-Oil Microemulsions*, Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 24–25:53–60.
- Lin, Y.H. (1986). *Substrate Specificities of Lipases from Corn and Other Seeds*, Archives of Biochemistry and Biophysics, 244(1):346–56.
- Muto, S.; Beevers H. (1974). *Lipase Activities in Castor Bean Endosperm during Germination*, Plant Physiology 54(1):23–28.
- Pacheco C. y otros 3 autores (2014). *Simultaneous Quantitation of FFA, MAG, DAG, and TAG in Enzymatically Modified Vegetable Oils and Fats*, Food Analytical Methods 7 (10):2013–2022.
- Patui S. y ocho autores más, (2014). *Lipase Activity and Antioxidant Capacity in Coffee (Coffea Arabica L.) Seeds during Germination*, Plant Science: An International Journal of Experimental Plant Biology 219–220
- Pierce, D.A.; Bristline R.G.; Sonnet P.E. (1997). *Vernonia Lipase: A Plant Lipase with Strong Fatty Acid Selectivity*, Methods in Enzymology, 284:220–32.
- Salleh A.; Rahman R.; Basri M. (2006). *New Lipases and Proteases*.
- Santos K.C. y otros seis autores, (2013). *Characterization of the Catalytic Properties of Lipases from Plant Seeds for the Production of Concentrated Fatty Acids from Different Vegetable Oils*, Industrial Crops and Products 49:462–70.
- Segel, I. (1993). *Enzyme Kinetics: Behavior and Analysis of Rapid Equilibrium and Steady-State Enzyme Systems*, EEUU, Wiley-Interscience.

49TCA. Caracterización de harinas obtenidas a partir de dos variedades de tubérculos de topinambur (*Helianthus tuberosus* L.)

Characterization of flours obtained from two varieties of topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) tubers

Nora Comelli⁽¹⁾, Renata Bomben⁽¹⁾, Andrea Díaz⁽²⁾, Cecilia Dini⁽²⁾, Sonia Viña⁽²⁾, Maria A. García⁽²⁾, Marta Ponzí⁽¹⁾

(1) FICA-UNSL-CONICET, INTEQUI CCT - CONICET – San Luis, Campus Universitario. Ruta 55 ext norte 5730. Villa Mercedes. San Luis, Argentina.

(2) CIDCA (Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos), Facultad Ciencias Exactas UNLP – CONICET La Plata - CICPBA, 47 y 116 S/Nº, La Plata (B1900AJJ), Buenos Aires,

Resumen

Debido a los altos niveles de población con diabetes y sobrepeso es de vital importancia investigar nuevas fuentes de alimentos con alto contenido en fibra ya que esta actúa disminuyendo el azúcar en sangre y generando sensación de saciedad. El *Helianthus tuberosus* L. (topinambur, alcachofa de Jerusalén) tiene la capacidad de almacenar inulina (fibra soluble) en sus tubérculos en lugar de almidón como lo hacen la mayoría de las plantas. Por esto, su respectiva harina resulta una interesante alternativa como ingrediente en alimentos funcionales. En este trabajo nos propusimos analizar la composición química de tubérculos de dos variedades diferentes: uno con piel blanca (TPB) y otro con piel rosada (TPR), cultivados en Villa Mercedes (San Luis, Argentina) con vistas al desarrollo de alimentos saludables. Los tubérculos fueron cuidadosamente lavados, cortados en rodajas y se secaron en un horno eléctrico con circulación de aire. Finalmente, el material fue molido y tamizado, dando origen a las harinas correspondientes de piel blanca (HTPB) y de piel rosada (HTPR). No se observaron diferencias significativas en los contenidos de lípidos (0,47-0,60%) ni de proteínas totales (8,43-7,47%) entre TPB y HTPB tubérculos y sus harinas derivadas. El contenido de cenizas tampoco difirió significativamente entre ambas variedades de tubérculos (1,23 y 1,63% para TPR y TPB, respectivamente). Para la HTPB se registraron mayores valores de humedad y cenizas (9,5% y 8,21%) que para HTPR (6,15% y 6,48%, respectivamente). Es posible obtener harinas a partir de las dos variedades de tubérculos ensayadas de topinambur de similar composición química; se plantea como próxima etapa profundizar los estudios relacionados con los componentes potencialmente bioactivos de dichas variedades.

Palabras clave: Alcachofa de Jerusalén, variedades de topinambur, Harinas nutricionalmente diferenciadas, inulina.

Abstract

Due to high rates of diabetes and overweight in the population, the study of new fiber-rich food sources results of vital importance since those ingredients provide a sense of fullness and help to diminish the sugar level in the blood. *Heliantus tuberosus* L. (topinambour or Jerusalem artichoke) store inulin (soluble fiber) instead of starch, which is a more spread storage polysaccharide in plant tubers. This makes its derived flour an interesting alternative as ingredient for functional foods. In this work, two varieties of topinambour, one with white skin (TPB) and the other with pink skin (TPR) were cultivated in Villa Mercedes (San Luis, Argentina) and studied in order to develop functional foods. Tubers were carefully washed, cut in slices and dried in an electric oven with air convection. The material was finally milled and sieved, corresponding to the white and pink skin tubers flours (HTPB and HTPR, respectively). No significant differences were observed in the lipid (0.47% and 0.60%) or protein (8.43% and 7.47%) contents between the tubers and their respective flour. The ashes content didn't differ between both tuber varieties either (1.23 and 1.63% for TPB and TPR, respectively). HTPB showed higher contents of moisture and ashes (9.5% and 8.21%) than HTPR (6.15% and 6.48%, respectively). It is possible to obtain flours from topinambour tubers assayed with similar chemical composition; for further assays, we propose to deepen the studies related to the potentially bioactive compounds that might be present in those varieties.

Keywords: Jerusalem artichoke; topinambur varieties; nutritionally differentiated flours, inulin.

1. Introducción

La diabetes es una enfermedad crónica que se desarrolla por una producción insuficiente de insulina o cuando el organismo no puede utilizar con eficacia la insulina que produce.

En el primer informe mundial sobre la diabetes publicado por la OMS se informó que en el año 2014 la prevalencia estimada de esta enfermedad en la población adulta a nivel mundial fue de 422 millones, frente a los 108 millones detectados en el año 1980 (<http://www.who.int/diabetes/global-report/en/>).

En Argentina, la prevalencia de diabetes se incrementó del 8,4% en el 2005 al 9,6% en 2009, posicionándose como la séptima causa de muerte en el país, con una tasa de mortalidad de 19,2 cada 100.000 habitantes (Caporale et al. *Globalization and Health* 2013, 9:54). Además, se observan mayores niveles de obesidad, en particular en los niños y jóvenes, situaciones que constituyen una problemática riesgosa para la salud. A través de una simple inspección en el mercado vemos que no existen suficientes alimentos destinados para personas con vulnerabilidad alimentaria. Estas personas requieren para su alimentación productos con alto contenido de fibra ya que ciertas fracciones de fibra soluble permiten disminuir el azúcar en sangre. Siendo las harinas base en la elaboración de muchos alimentos, focalizamos nuestra atención en la obtención de una harina a partir de tubérculos de *Helianthus tuberosus L.*, conocido comúnmente como topinambur o alcachofa de Jerusalén, para elaborar una harina que pueda ser útil para personas con vulnerabilidad alimentaria. El topinambur es una especie perenne del mismo género que el girasol, pero se diferencia en que sus capítulos son de menor tamaño, puede alcanzar dos a tres metros de altura con tallos ramificados y produce tubérculos aptos para el consumo humano y animal que son los que presentan el mayor aporte nutricional. Es una planta rústica que se desarrolla muy bien sin necesidad de fertilizantes. Con un manejo adecuado en la siembra, y manteniendo cierta distancia entre las plantas, se puede lograr que la sombra que genera evite el desarrollo de malezas, de modo que no se necesita el uso de agroquímicos. Además, puede ser cultivada tanto en la región de la pampa húmeda como en la región semiárida. Los rindes en topinambur son altos, comparados con otros cultivos: una hectárea puede producir 30 toneladas de bulbo de los que se pueden obtener aproximadamente 4500 kg de harina, de modo que con pequeñas plantaciones realizadas por labradores de la tierra locales se consigue una buena producción, pudiéndose por otro lado aprovechar la parte aérea como forrajera. Otra ventaja es que tanto la siembra como la cosecha se

realizan con la misma maquinaria usada para el cultivo de la papa.

A nivel mundial hay un creciente interés en los "alimentos funcionales", aquellos con agregado de probióticos o prebióticos, antioxidantes, fitoesteroles y fibras, entre otros. Los prebióticos más estudiados son los fructanos de tipo inulínico, principalmente la inulina y la oligofructosa, o fructooligosacaridos también conocidos como FOS, componentes que se encuentran naturalmente en una amplia variedad de alimentos. Dentro de los que tienen mayor concentración de inulina se encuentran la raíz de la achicoria (desde donde es extraída industrialmente), topinambur, cebolla, trigo, ajo, banana, puerro, entre otros (Roberfroid, 2007).

El topinambur podría considerarse un alimento funcional debido a su aporte de fibra dado su alto contenido de inulina. La propiedad de la inulina más extensivamente estudiada es su comportamiento como prebiótico (Kays y Nottingham 2008), es decir, su capacidad selectiva de estimular el crecimiento de un grupo de bacterias benéficas en el colon (bifidobacterias y lactobacilos), con la consecuente disminución de otras especies que pueden ser perjudiciales. Rubel y col (2014) determinaron la actividad prebiótica *in vitro* de carbohidratos ricos en inulina usando *Lactobacillus paracasei* como microorganismo probiótico y encontraron que los carbohidratos ricos en inulina extraídos de los tubérculos almacenados en frío durante 4 meses mostraron la puntuación de actividad prebiótica más alta, incluso más alta que la correspondiente a una inulina de calidad alimentaria comercial. Judprasong K. y col (2017) determinaron nutrientes, contaminantes químicos (residuos de insecticidas y metales pesados) y sustancias tóxicas naturales en el tubérculo de topinambur. Los resultados de este estudio permiten determinar a priori que este tubérculo puede consumirse como alimento con seguridad, no obstante, se deberían realizar estudios en la zona de cultivo, dado que la cantidad de agroquímicos que se usa es diferente de un lugar a otro. Rubel (2015) realizó la extracción de inulina desde el tubérculo de topinambur, la purificó y ensayó su adición a la harina de trigo para la obtención de pan enriquecido en fibra dietaria, estudiando también su capacidad prebiótica, las propiedades reológicas de las masas, y los parámetros fisicoquímicos y propiedades sensoriales de los panes. Si bien el uso de la inulina en lugar de harina de topinambur puede permitir lograr un producto con mejores características organolépticas, encarecen mucho la obtención del producto final. Es por ello que en el presente estudio proponemos a la harina de topinambur como ingrediente para la elaboración de alimentos funcionales de modo que

puedan ser elaborados por pequeñas empresas, lo cual constituye además un beneficio social.

La harina de topinambur presenta un alto contenido de fibra la cual, además de ser beneficiosa para la salud, puede actuar como un aditivo alimentario dándole mayor textura a las masas y contribuyendo a la estabilización de los productos derivados. El objetivo del presente trabajo fue elaborar y caracterizar fisicoquímicamente harinas obtenidas a partir de tubérculos de topinambur de dos variedades: rosada y blanca.

2. Materiales y métodos

2.1 Material vegetal

Se utilizaron tubérculos de topinambur cultivados en una parcela sembrada en la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agropecuarias (FICA) de la UNSL que se encuentra en la ciudad de Villa Mercedes, San Luis (Figura 1). Se sembraron dos variedades de tubérculos clasificadas según su coloración superficial como de piel blanca (TPB) y rosada (TPR), respectivamente (Figura 2).



Figura 1. Planta de topinambur variedad TPB en etapa de floración

La siembra se realizó a mediados de septiembre del año 2016 y una parte del material se cosechó a partir de los primeros días de junio de 2017. Según datos de la Red de Estaciones Meteorológicas para la provincia de San Luis, durante el período de cultivo la precipitación acumulada fue de unos 650 mm. Las temperaturas medias más bajas correspondieron al mes de septiembre de 2016 (12,6°C) mientras que las más elevadas se registraron en el mes de febrero de 2017 (23,4°C). Las temperaturas mínimas más bajas (-6,0°C) correspondieron al mes de septiembre, en coincidencia con la siembra de los tubérculos.



Figura 2. Tubérculos de topinambur de la variedad piel blanca (TPB) y piel rosada (TPR)

2.2 Elaboración de las harinas

Para obtener las harinas, previamente se seleccionaron los tubérculos descartándose los que presentan partes no aptas para su procesamiento, luego se lavaron con agua de red en una lavadora semi-industrial de la planta piloto de la FICA, finalmente se llevó a cabo un cepillado manual. Luego de estas operaciones la cáscara de los tubérculos se conserva parcialmente. No se ensayó una etapa de pelado dada la forma irregular de los tubérculos. A continuación, las muestras se cortaron en rodajas de 2 mm de espesor aproximadamente, se colocaron en bandejas, las que luego son introducidas en un horno eléctrico a 60°C, marca Exoterm, con 8 bandejas, cada una puede cargar aproximadamente 1 Kg. Con flujo de aire regulable y con posibilidades de tomar aire desde el exterior lo cual permite la eliminación más rápida de la humedad generada en la deshidratación.

Se requieren aproximadamente 10 horas para lograr el secado hasta peso constante para una carga inicial de 5 Kg de tubérculos. Una vez seco y frío el material es colocado en bolsas de polietileno y rotulado para la posterior elaboración de harina. Esta se obtiene por molienda del material seco en una trituradora de la planta piloto de la FICA y luego en una moladora de granos para lograr un tamaño de partícula más pequeño, finalmente el material es tamizado (malla 80) para lograr una granulometría uniforme. Finalmente, la harina es envasada en bolsas de polietileno y rotulada indicando la fecha de cosecha y de elaboración.

2.3 Composición química de harinas y tubérculos

2.3.1 Contenido de humedad

Se determinó el contenido de humedad residual, siguiendo el método de referencia (AOAC, 1990). Así, 0,5 g de muestra (tubérculo o harina) se colocaron en vidrio de reloj previamente tarado y se mantuvo en estufa a 105 °C hasta alcanzar peso

constante. Los resultados finales se expresaron como porcentaje (%) en relación al peso inicial de la muestra.

2.3.2 Contenido de cenizas

El contenido de cenizas se determinó por el método de referencia (AOAC 1990). A tal fin, 3 g de muestra (tubérculo o harina) se colocaron en crisoles tarados previamente calcinados, se carbonizaron en la llama de un mechero Bunsen y luego se llevaron a mufla a 550 °C hasta la obtención de cenizas blancas. Los resultados finales se expresaron como porcentaje (%) en relación al peso inicial de la muestra.

2.3.3 Contenido de lípidos totales

Para la determinación del contenido de lípidos, se realizaron ciclos de extracción sucesiva (al menos 8) utilizando n-hexano como solvente en un equipo Soxhlet. Se pesaron los balones al inicio y al final de la operación (luego de la recuperación del solvente y posterior evaporación del mismo), determinando gravimétricamente el contenido de materia grasa total. Los resultados se expresaron como porcentaje (%).

2.3.4 Cuantificación del contenido de proteínas totales

El contenido de proteína total de los tubérculos y harinas se evaluó por el método Kjeldahl. Este método cuantifica el nitrógeno total, proveniente principalmente de las proteínas y otras fuentes de nitrógeno no proteico y, mediante el factor de conversión 6,25 en este caso, se estimó la cantidad de proteínas totales (proteína bruta) presentes en la muestra. Los resultados se expresaron como porcentaje en peso (%).

2.3.5 Determinación del contenido de azúcares reductores y estimación del contenido de inulina presente en las harinas

El contenido de azúcares reductores en las harinas se determinó por el método de Somogyi-Nelson. Éste consiste en la reducción del reactivo de cobre alcalino por parte de los azúcares reductores de la muestra, dando óxido cuproso, el cual en presencia del reactivo arsenomolibdico forma un complejo de color azul estable que se mide espectrofotométricamente a 590 nm. El contenido de inulina (I) se determinó empleando la siguiente ecuación:

$$I = k (FT-FL)$$

Siendo FT la fructosa total presente en la muestra, FL el contenido de fructosa libre y k una constante

de valor 0,995 indicada cuando se desconoce el grado de polimerización de la inulina.

Para cuantificar el contenido de inulina en las harinas se pesaron 1 g de cada una de las harinas (HTPB) y (HTPR) y se realizaron dos extracciones sucesivas con agua destilada (relación 1:10) a 90 °C durante 40 min con agitación constante. Las condiciones de extracción fueron optimizadas en ensayos preliminares (Diaz y col. 2016). Los extractos obtenidos se centrifugaron durante 20 minutos a temperatura ambiente conservando los sobre-nadantes, los cuales fueron desproteinizados, agregando hidróxido de calcio hasta pH 11, se centrifugaron y filtraron para separar el precipitado de las proteínas. Finalmente, el pH se reguló a 8 agregando ácido fosfórico al 80 %. Esta etapa se realizó para eliminar las proteínas solubles que luego podrían interferir en la determinación espectrofotométrica.

Los extractos obtenidos se dividieron en dos partes, una se conserva para la cuantificación de fructosa libre (FL) y la otra parte se somete a un tratamiento de hidrólisis ácida (HCl 0,05 N – 40 min a ebullición) para determinar la fructosa total (FT).

2.4 Análisis termogravimétrico de las harinas y tubérculos

El estudio termogravimétrico se realizó usando una termobalanza TGA60 marca Shimadzu la que permite medir simultáneamente la pérdida de masa TGA y los cambios calóricos (DTA). Se utilizaron muestras de 10 mg en corriente de gas nitrógeno (20 mL min⁻¹ con una rampa de calentamiento de 10 °C min⁻¹ desde 30 °C aproximadamente hasta 800 °C

2.5 Análisis estadístico

Los resultados se compararon mediante un análisis de varianza unidireccional (ANOVA) utilizando el test LSD de Fisher con un nivel de significación de 5% (p =0,05). Se utilizó el software InfoStat

3. Resultados y Discusión

3.1 Composición de harinas y tubérculos

En la Tabla 1 se presentan los valores correspondientes a las medias ± la desviación estándar de las determinaciones realizadas sobre los tubérculos TPB y TPR. De acuerdo al análisis estadístico no se encuentran diferencias significativas entre las determinaciones para (p < 0,05). Los resultados obtenidos están en concordancia con los hallados por Rubel y col (2014).

Tabla 1. Composición de TPB y TPR, expresados en % de material seco cosecha 2017.

	TPB	TPR
Humedad	78,55 ± 0,4	81,62 ± 0,5
Materia grasa	0,50 ± 0,03	0,48 ± 0,07
Proteína	8,43 ± 0,01	8,21 ± 0,18
Ceniza	1,63 ± 0,02	1,23 ± 0,02
Carbohidratos	10,89	8,46

La composición obtenida para los tubérculos de las diferentes variedades no parecería presentar grandes diferencias. La variedad rosada presenta una leve disminución en el contenido de cenizas y carbohidratos totales.

En Tabla 2 se presentan los valores correspondientes a las medias ± la desviación estándar de las determinaciones realizadas sobre las harinas HTPB y HTPR .

Tabla 2. Composición de las harinas HTPB y HTPR , expresados en % de material seco cosecha 2017.

	HTPB	HTPR
Humedad	9,49 ± 0,15	6,16 ± 0,21
Materia grasa	0,60 ± 0,01	0,47 ± 0,06
Proteína	7,47 ± 0,43	7,89 ± 0,69
Ceniza	8,21 ± 0,26	6,48 ± 0,26
Carbohidratos	72,23	79,00

En cuanto a la composición de las harinas (Tabla 2), la HTPB presentó mayores valores en grasa, cenizas y humedad (0,6 %; 8,21 % y 9,49 %) con respecto a HTPR (0,47 %; 6,48 % y 6,16 %) mientras que HTPR presentó un valor superior en proteínas 7,89 % con respecto a 7,47 % en HTPB. El contenido de cenizas no difirió significativamente entre ambas variedades de tubérculos (1,23 y 1,63 % para TPR y TPB, respectivamente).

3.2 Azúcares reductores libres y estimación del contenido de inulina

En la Figura 3 se presentan los contenidos de azúcares libres y totales expresados como fructosa presentes en las muestras de harina. Los valores de fructosa libre obtenidos para HTPR son muy superiores a los encontrados en la HTPB. Tanto la fecha de cosecha como la de elaboración de harina coincidieron para ambas muestras, corresponden a los primeros días de junio de 2017, de modo que esa diferencia no puede ser atribuida a degradación de la inulina durante la postcosecha.

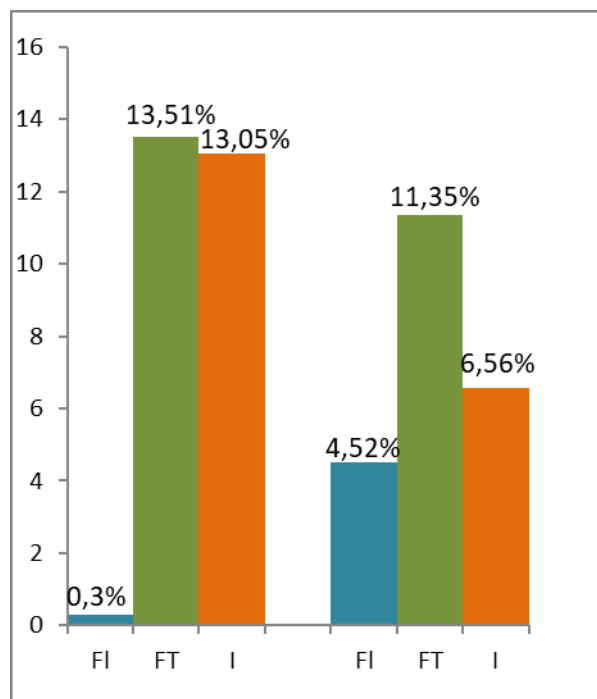


Figura 3. Contenido de inulina (I), fructosa libre (FL) y fructosa total (FT) expresado como % en base seca de HTPB (izquierda) y HTPR (derecha) de topinambur.

También son inferiores los valores de fructosa total y consecuentemente de inulina encontrados en la HTPR respecto a HTPB.

Visualmente, se observó que la harina derivada de los tubérculos correspondientes a la variedad rosada presentó una tonalidad marrón más intensa que la obtenida de la variedad blanca (Figura 4). Esto puede explicarse considerando el mayor contenido de fructosa libre, en presencia de las proteínas, produce los compuestos típicos derivados del pardeamiento químico o reacción de Maillard luego del secado. Además, hay que tener en cuenta que en el procesado de los tubérculos no se eliminó su piel por completo, lo que también puede contribuir a las diferencias de color observadas.

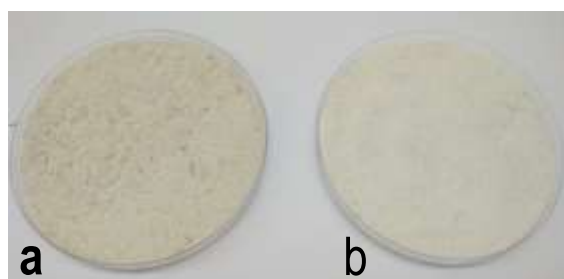


Figura 4. Harinas HTPR (a) y HTPB (b)

Los valores de inulina obtenidos son inferiores a los que se encuentran en bibliografía, lo que puede atribuirse, entre otros factores, a la variedad utilizada y a la etapa que atravesaba el cultivo al tiempo de la cosecha. Al respecto Bach y col (2015) y Kocsis y col (2007) informaron que el mayor contenido de inulina en topinambur se obtiene entre las 22 y 29 semanas desde la siembra dependiendo de la variedad. Luego de éste período el contenido de inulina disminuye ya que esta sustancia de reserva es utilizada en distintos procesos metabólicos de la planta. En nuestro caso, la cosecha se realizó a las 38 semanas, lo que podría explicar los valores obtenidos.

3.3 Análisis termogravimétrico

En el análisis termogravimétrico se registra la pérdida de peso en las muestras que son sometidas a temperaturas de hasta 800 °C y simultáneamente se registran los cambios calóricos endotérmicos o exotérmicos que experimenta la muestra.

Tabla 3. Temperaturas de descomposición térmica de tubérculos de topinambur y sus correspondientes harinas.

Producto	Zona 1 (%)	Zona 2 (%)	Zona 3 (%)
TPB	75,70	8,79 5,46	10,05
TPR	74,37	10,12 9,31	6,2
HTPB	10,32	39,82 40,55	9,31
HTPR	9,64	40,45 24,17	25,74
Inulina	8,27	48,99 24,23	18,51

Para llevar a cabo el análisis se eligieron 3 zonas de rangos de temperatura donde se producen determinadas transformaciones químicas. La Zona 1 desde temperatura ambiente hasta 189 °C que corresponde a pérdida de agua, la Zona 2 con 2 intervalos de temperatura entre 189 °C y 309 °C donde se descomponen los carbohidratos y péptidos de bajo peso molecular y entre 309 °C y 530 °C donde se descomponen los polisacáridos de alto peso molecular como proteínas y lípidos y una Zona 3 desde 530 °C hasta 800 °C que se atribuye a residuos (Solis-Fuentes y col 2010), Lucas y col 2013). El contenido de agua es muy semejante entre los tubérculos de ambas variedades, del mismo modo que lo es el contenido de agua en las harinas. La zona 2 es sin duda la zona donde se descomponen los carbohidratos y dentro de ellos la inulina, la pérdida de peso total en esa zona para la HTPB es de 80,37 % mientras que para la HTPR es menor, de 64,62 % lo cual estaría en concordancia con el valor

inferior de inulina encontrado en la determinación de la misma (Fig. 3).

4. Conclusiones

El *Helianthus tuberosus* L. puede ser considerado un alimento adecuado para personas que padecen diabetes, obesidad o simplemente prefieren una dieta más saludable. Posee alto contenido de inulina, compuesto de cadenas moleculares de fructosa constituyendo la sustancia de reserva en los tubérculos y forma parte de la fibra alimentaria. La inulina no se degrada en el estómago sino que recién lo hace en el intestino actuando como un prebiótico, estimulando el crecimiento de un grupo de bacterias benéficas para la salud. Se obtuvieron harinas desde las dos variedades de tubérculos, piel blanca y piel rosada, cosechadas en Villa Mercedes (San Luis), mediante las siguientes operaciones selección, lavado, rebanado, secado a 60 °C, molido y tamizado. Los estudios de la composición química arrojaron para la variedad piel blanca valores de 0,5 y 0,60 % de lípidos, 8,43 y 7,47 % de proteínas, y 1,63 y 8,21 % de cenizas para tubérculos y harinas respectivamente. Para la variedad de piel rosada se obtuvieron los siguientes valores, 0,48 y 0,47 % de lípidos, 8,21 y 7,89 % de proteínas y 1,23 y 6,48 % de cenizas para tubérculos y harina respectivamente. La HTPB presenta mayor contenido de inulina (13,5 %) respecto a la HTPR (6,5 %). El alto contenido en carbohidratos también es corroborado por el análisis termogravimétrico ya que la mayor pérdida de peso se registra en la zona donde se transforman los carbohidratos; valores que se pueden contrastar con los obtenidos en la descomposición de la inulina. De este estudio podemos concluir que es posible obtener harinas de las dos variedades de tubérculos, con composiciones muy semejantes, de modo que ambas variedades constituyen un alimento útil para poblaciones con vulnerabilidad alimentaria.

5. Referencias

- Bach, V.; Clausen, M. R.; Edelenbos, M. . Production of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) and impact on inulin and phenolic compounds. / Processing and Impact of Active Components in Food. ed. / Victor R. Preedy. Elsevier, Academic Press, 2015. p. 97-102.
- Caporale, J.; Elgart, J. y Gagliardino, J. Diabetes in Argentina: cost and management of diabetes and its complications and challenges for health policy. Globalization and Health, 2013.
- Diaz, A., Dini, C., Comelli N., Viña, S., Garcia, M. A., Ponzi, M. V. I Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. CICyTAC, Cba, Argentina (2016).

Judprasong K. , Archeepsudcharit N, Chantapiriyapoon K., Tanaviyutpakdee P., Temviriyankul P. Food Chemistry (2017) en prensa.

Kays S. J. y S.F. Nottingham. Biology and Chemistry of Jerusalem Artichoke: *Helianthus tuberosus*, CRC Press (2008).

Kocsis et al (2007). Effect of Seasonal Changes on Content and Profile of Soluble Carbohydrates in Tubers of Different Varieties of Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.)

Lucas, J.C.; Quintero, V. D. y Caedenas Valencia C. A. Caracterización de harina y almidón obtenidos a partir de plátano guineo AAAea (*Musa sapientum* L.). Agroindustria, 2013.-

Roberfroid, M. (2007). “Prebiotics: The Concept Revisited”. The Journal of Nutrition. American Society for Nutrition. 137 (2007) 830–837.

Rubel, I. A., Pérez, E. E., Genovese, D. B., Manrique, G. D., Food Res. Interna. 62 (2014) 59.

Rubel I. A. Estudio de las Propiedades físico-químicas, organolépticas y nutricionales de productos panificados desarrollados utilizando ingredientes no tradicionales con propiedades funcionales. Tesis doctoral. UNS. Bahía Blanca. Argentina (2015).

Solís-Fuentes, J. A., Amador-Hernández, C., Hernández-Medel, M., Durán-de-Bazúa, M.C. Caracterización fisicoquímica y comportamiento térmico del aceite de “almendra” de guanábana (*Annona muricata*, L) GRASAS Y ACEITES, 61 (1), (2010) 58-66.

50TCA. Caracterización de hidrogeles de alginato de sodio y pectina de bajo grado de metoxilación durante pre-tratamientos de deshidratación osmótica

Characterization of sodium alginate hydrogels and low methoxyl pectin during pre-treatments of osmotic dehydration

Soteras, M.¹; Gamboa-Santos, J.²; Campañone, L.^{2,3}.

¹ Facultad de Ingeniería y Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de San Luis. Ruta Prov. Nº 55 (Ex. 148) Extremo Norte - (5730) Villa Mercedes, San Luis. Argentina.

² CIDCA (CONICET-CCT, CIC y Universidad Nacional de La Plata). 47 y 116 – (1900) La Plata. Argentina.
E-mail: jou_joule@hotmail.com

³ Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería (UNLP), Calle 1 y 47, La Plata (1900), Argentina.

Resumen

En el presente trabajo se caracterizaron geles de alginato de sodio y pectina de bajo metoxilo empleados normalmente como recubrimientos y/o películas comestibles, durante tratamientos de deshidratación osmótica (DO). Se evaluaron diferentes condiciones operativas con el fin de minimizar el ingreso de solutos desde la solución osmótica (SG) y maximizar la pérdida de agua de las muestras hacia la solución (WL) para cada tipo de recubrimiento. Se utilizaron tres tipos de agentes osmóticos (sacarosa, jarabe de glucosa y maltodextrina) a 40 y 60 °Brix (°Bx), durante 0,5; 1 y 2h, a 40 °C.

Los hidrogeles de alginato mostraron los mayores valores de WL (65,4–73,8%) durante los tratamientos con maltodextrina a 60 °Bx. Los valores de SG más bajos se obtuvieron para el tratamiento con maltodextrina a 40 °Bx. Sin embargo, la mayor relación WL/SG (4,9) se obtuvo después de 0,5 h utilizando jarabe de glucosa a 60 °Bx. En cuanto a los hidrogeles de pectina mostraron resultados similares a los obtenidos para alginato. Las mayores WL (69,9-74,8%), se obtuvieron para la condición 60°Bx-maltodextrina, mientras que los menores SG (12,7–15,1%) correspondieron al tratamiento 40 °Bx-maltodextrina. De acuerdo a los valores WL/SG obtenidos para pectina, el tratamiento más eficiente correspondió a la condición: maltodextrina, 40 °Bx, 1h.

Palabras clave: recubrimientos comestibles, efecto barrera, deshidratación osmótica.

Abstract

In the present work, sodium alginate and pectin gels normally used as coatings or edible films were characterized during osmotic dehydration (OD) treatments. Different operating conditions were evaluated in order to minimize the solid uptake (SG) from the osmotic solution to the sample and maximize the loss of water (WL) from the samples to the solution for each type of edible coating. Three osmotic agents (sucrose, glucose syrup and maltodextrin) were used at 40 and 60 °Brix (°Bx), during 0.5; 1 and 2h, by using a constant temperature of 40 °C.

The alginate coated samples showed the highest WL values (65.4-73.8%) during maltodextrin treatments, at 60 °Bx. The lowest SG values were obtained for maltodextrin treatments too, but at 40 °Bx. The highest WL/SG ratio (4.9) was obtained after 0.5 h using glucose syrup at 60 °Bx. The pectin gels showed similar results for WL and SG compared to those obtained for alginate coating. The highest WL (69.9-74.8%) were obtained for the 60°Bx-maltodextrin condition, while the lower SG (12.7-15.1%) corresponded to the 40°Bx-maltodextrin treatment. According to the WL/SG values obtained for pectin coatings, the most efficient treatment was reached with maltodextrin at 40 °Bx for 1h condition.

Keywords: edible coatings, barrier effect, osmotic dehydration.

1. Introducción

La deshidratación osmótica (DO) es uno de los pre-tratamientos más utilizados durante el proceso de deshidratación de vegetales y frutas (Rastogi et al., 2014). Sin embargo, cuando los productos se someten a condiciones de DO enérgicas puede tener lugar una excesiva pérdida de constituyentes bioactivos hacia el medio osmótico y un considerable ingreso de solutos hacia la matriz vegetal (Khin et al., 2006). En el caso de la DO aplicada a frutas, los agentes osmóticos suelen ser azúcares que aportan dulzor y un elevado contenido energético cuando se impregnan en los productos de partida. Para evitar modificaciones significativas en la calidad nutritiva y sensorial de las frutas sometidas a DO, diferentes estudios han abordado el efecto barrera de materiales biodegradables utilizados como recubrimientos comestibles (Matuska et al., 2006; Jalae et al., 2011; Rodriguez et al., 2016).

Entre los recubrimientos comestibles más utilizados, el alginato de sodio (ALG) tiene la particularidad de formar geles resistentes en presencia de iones calcio (Camirand et al., 1992). Si bien una concentración baja de iones Ca^{+2} incrementa notablemente la viscosidad de las soluciones de alginato, debido a las interacciones entre macromoléculas de polisacáridos, la magnitud del efecto del Ca^{+2} depende de la composición en ácidos urónicos y del grado de polimerización del alginato. Por tanto, la viscosidad final de la solución difícilmente pueda predecirse y suele determinarse de forma experimental (Marcos et al., 2016). Los recubrimientos de ALG pueden, a su vez, asociarse a otros componentes de los alimentos como proteínas y derivados de celulosa o pectina (Comaposada et al., 2015).

El efecto barrera de recubrimientos de ALG aplicados a vegetales y frutas ha sido corroborado en varios estudios. Matuska et al. (2006) reportaron reducciones en el ingreso de sólidos superiores al 40% con buenos índices de eficiencia de deshidratación durante tratamientos DO (sacarosa 61,5 °Bx; 30 y 50 °C) en frutillas recubiertas con soluciones de alginato de sodio (0,5 y 1%) y cloruro de calcio (2%), gomas carragen y guar (0,5 y 1%). Lazarides et al. (2007) observaron reducciones en el contenido de sólidos final del orden del 25% a favor de muestras de papa recubiertas con alginato de sodio (0,5%) y cloruro de calcio (2%), comparadas con muestras sin recubrir y sometidas a tratamientos de DO (sacarosa 30-50 °Bx, 3h).

Otros estudios han evaluado la aplicación de pectina de bajo grado de metoxilación (PEC). Khin et al. (2006) observaron reducciones significativas en la incorporación de sólidos a temperaturas altas en papas sometidas a DO recubiertas con PEC (2%)

utilizando cloruro de calcio como agente de entrecruzamiento y cloruro de sodio (10, 14 y 18%) como agente osmótico (T: 25, 40 y 55 °C).

Aunque varios estudios han evaluado la aplicación de recubrimientos de ALG y PEC durante tratamientos de DO, no se han encontrado trabajos que caracterizaran la capacidad barrera de los hidrogeles por sí solos, sin interactuar con las matrices vegetales, cuando se los somete a tratamientos de DO y/o secado. En adición, no se ha determinado con claridad la contribución del hidrogel en la ganancia de sólidos totales que experimentan los productos sometidos a DO. Por ello, el objetivo del presente trabajo fue caracterizar geles de alginato de sodio y pectina de bajo grado de metoxilación, durante tratamientos de DO, evaluando diferentes condiciones operativas (sacarosa, jarabe de glucosa, maltodextrina; 40 y 60 °Bx; 40 °C; 0,5-2 h) con el fin de minimizar el ingreso de solutos desde la solución osmótica (SG) y maximizar la pérdida de agua de las muestras hacia la solución (WL) para cada tipo de recubrimiento.

2. Materiales y métodos

2.1 Preparación de recubrimientos

Los hidrogeles ALG se prepararon a partir de soluciones de alginato de sodio (2% p/p, Sigma Aldrich) y lactato de calcio (5% p/p, Sigma Aldrich). Los hidrogeles PEC, a partir de soluciones de pectina de bajo grado de metoxilación (3% p/p) y lactato de calcio (5% p/p, Sigma Aldrich). Se utilizaron placas de Petri plásticas (diámetro: 9 cm) para moldear los hidrogeles. Se cubrió la superficie de la placa con una fina película de alginato de sodio o pectina (según el caso) y luego se aplicó la solución de lactato de calcio con un rociador, en exceso, dejando actuar la mezcla por 5 min. Luego de escurrir los recubrimientos, descartando el exceso de lactato de calcio, los hidrogeles fueron secados con papel absorbente para eliminar excedentes de solución superficial.

2.2 Deshidratación osmótica de las muestras

Los hidrogeles, de alginato y pectina, fueron pesados ($9,53 \pm 0,27$ g) y deshidratadas osmóticamente por inmersión en soluciones osmóticas (sacarosa, jarabe de glucosa y maltodextrina) durante 0,5, 1 y 2h a 40 y 60 °Brix (°Bx) a una temperatura controlada de 40 °C (relación muestra: solución, 1:10), con agitación a 100 rpm en shaker (TT400, Perca, Argentina). Condiciones similares de tratamiento fueron utilizadas por Mundada et al (2011) para ensayos de DO en frutas. Transcurrido el tiempo de tratamiento, se extrajeron las muestras escurriéndolas en mallas plásticas y lavándolas con agua destilada para remover restos de solución

osmótica superficial. Se secaron en papel absorbente y se registraron los pesos y la humedad. Todos los ensayos de DO se realizaron por triplicado.

Para calcular los parámetros característicos de la DO: pérdida de peso (WR), pérdida de agua (WL) y ganancia de sólidos (SG), se utilizaron las ecuaciones (1, 2 y 3).

$$WR = \frac{(m_i - m_f)}{m_i} * 100 \quad (1)$$

donde WR indica la pérdida de peso porcentual durante la DO (%); m_i y m_f son la masa inicial y final de muestra, respectivamente (g).

$$WL = WC_0 - WC_{DO} * \left(1 - \frac{WR_{DO}}{100}\right) \quad (2)$$

donde WL indica la pérdida de agua durante la DO (%); WC_0 es el contenido inicial de humedad (g agua inicial/ g muestra inicial, %); WC_{DO} es el contenido de humedad luego del proceso de DO (g agua final/ g muestra final, %).

$$SG = TS_{DO} * \left(1 - \frac{WR_{DO}}{100}\right) - TS_0 \quad (3)$$

donde SG es la ganancia de sólidos respecto al contenido inicial (%); TS_0 es el contenido de sólidos totales iniciales (g sólidos inicial/ g muestra inicial ó $100 - WC_0$, %) y TS_{DO} es el contenido de sólidos totales tras la DO (g sólidos final/ g muestra final, %).

2.3 Determinación de humedad

El contenido de humedad inicial y final de las muestras se determinó mediante el método AOAC 934.06 (AOAC 1997).

2.4 Determinación de sólidos solubles

La determinación de sólidos solubles de las muestras frescas y deshidratadas osmóticamente se realizó con un refractómetro digital (Hanna Instruments Modelo HI96801, USA) que mide los °Bx sobre el extracto obtenido del prensado y filtrado de las muestras, a temperatura ambiente. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

3. Resultados y Discusión

La **Figura 1** muestra, los hidrogeles de ALG (izquierda) y PEC (derecha) obtenidos tras los tratamientos de DO con maltodextrina a 60 °Bx a todos los tiempos ensayados: 0,5; 1 y 2h. Independientemente del tratamiento de DO aplicado, se observó una mejora en la firmeza de las muestras

después del procesamiento. La DO mejoraría la textura de las muestras debido a una doble concentración: por un lado se pierde agua y por el otro se incorporan sólidos (Jalae et al., 2011).

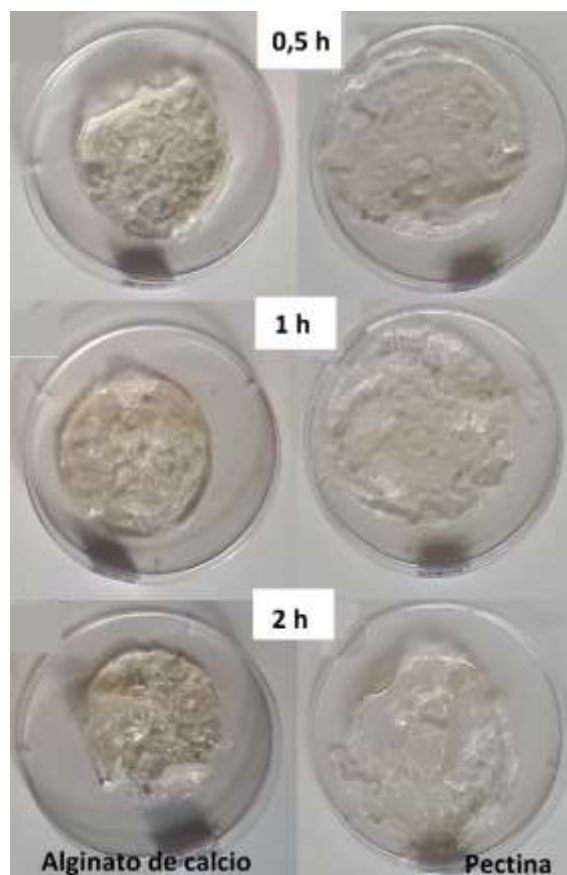


Figura 1. Fotografías de hidrogeles de alginato de calcio y pectina, sometidos a tratamientos de DO con maltodextrina (60 °Bx), a diferentes tiempos: 0,5; 1 y 2 h.

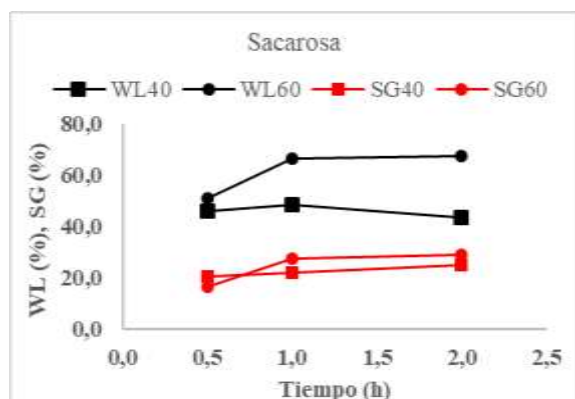
De las muestras analizadas, los geles ALG se mostraron más firmes que los PEC. Al inicio de los tratamientos de DO ya se había observado un menor espesor en los geles PEC respecto de ALG, probablemente debido a la estructura del hidrocólide, ya que los hidrogeles de alginato son más ordenados que los de pectina (Galus & Lenart, 2013) y a la menor concentración de solución (3% para PEC frente a 5% de ALG). Al finalizar los tratamientos de DO los recubrimientos PEC se mostraron más blandos, frágiles y quebradizos, comparados con los geles ALG (**Figura 1**). Sin embargo, se observó un menor encogimiento durante el tratamiento de DO para PEC (mayor diámetro final) y una apariencia más translúcida.

3.1 Parámetros característicos de DO para ALG

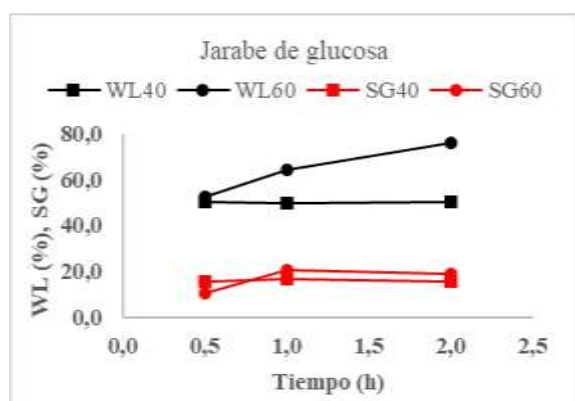
Las pérdidas de peso (WR) de los hidrogeles ALG, sometidos a DO se encontraron en el rango 18,7-25,7% para sacarosa, 33,0-34,7% para jarabe de glucosa y 34,4-36,7% para maltodextrina, a

concentraciones de 40 °Bx. Por otra parte, se obtuvieron pérdidas de peso más altas para la condición 60 °Bx: 34,5-38,9% sacarosa; 41,8-57,1% jarabe de glucosa y 48,0-51,3% maltodextrina.

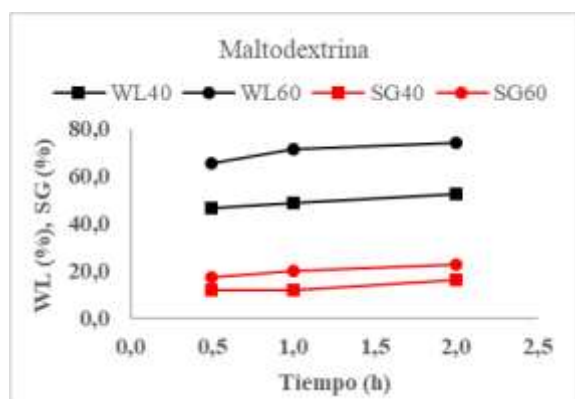
En la **Figura 2** se representan los valores WL y SG para los agentes osmóticos utilizados en el presente trabajo: sacarosa, jarabe de glucosa y maltodextrina, a 40 y 60 °Bx, en función del tiempo de tratamiento (0,5; 1 y 2h).



(a)



(b)



(c)

Figura 2. Parámetros de DO en función del tiempo de tratamiento para hidrogeles de alginato de calcio sometidos a soluciones osmóticas de (a) sacarosa, (b) jarabe de glucosa y (c) maltodextrina. WL40: pérdida de

agua para condición 40 °Bx; WL60: pérdida de agua a 60 °Bx, SG40: ganancia de sólidos a 40 °Bx y SG60: ganancia de sólidos a 60 °Bx.

En la mayoría de los casos, las muestras sometidas a concentraciones de 60 °Bx, independientemente del agente osmótico utilizado, presentaron las mayores pérdidas de agua (WL) y ganancia de sólidos solubles (SG). Los recubrimientos ALG sometidos a soluciones de sacarosa y jarabe de glucosa experimentaron pérdidas de agua similares durante los primeros 30 min de tratamiento. A partir de la hora de tratamiento, las muestras sometidas a 60 °Bx, experimentaron un incremento significativo en los valores de WL (9, 23 y 29% para maltodextrina, jarabe de glucosa y sacarosa, respectivamente) respecto de las pérdidas de agua obtenidas durante la primera media hora de tratamiento. Este comportamiento se explicaría por la diferencia de potencial químico entre la muestra y la solución osmótica en las etapas iniciales, alcanzando posteriormente un equilibrio químico. [Rodríguez et al. \(2016\)](#) observaron los mayores cambios en los parámetros SG y WL durante la primera media hora de tratamiento DO (sacarosa y glucosa, 40 y 60 °Bx) en muestras de calabaza recubiertas con ALG (1%) y cloruro de calcio (10%). El aumento en la concentración de solución osmótica, de 40 a 60 °Bx, dio lugar a un significativo incremento en los valores de WL, después de la hora de tratamiento, para sacarosa y jarabe de glucosa y desde el inicio para maltodextrina. Esto supone una mejor performance del tratamiento DO a concentraciones de 60 °Bx (>WL/SG ratio, ver **Tabla I**). En general, los mayores valores de WL se obtuvieron para los tratamientos con maltodextrina a 60 °Bx (65,4; 71,5 y 73,8%). Por el contrario, las menores pérdidas de agua, se obtuvieron con la condición sacarosa 40 °Bx (43,5-48,6%). Diversos estudios han señalado una mejora en la eficiencia de la DO cuando se utilizan concentraciones elevadas de solución osmótica ([Khin et al., 2006](#); [Jalaei et al., 2011](#); [Djendoubi Mrad et al., 2013](#); [Rodríguez et al., 2016](#)). Con respecto a los valores de SG, la utilización de sacarosa 60 °Bx dio lugar a los valores más altos, en el rango 16,8-29,1%. Los valores más bajos, para dicho indicador, se obtuvieron mediante la condición maltodextrina 40 °Bx y se encontraron en el rango 11,7-16,1%.

La relación WL/SG para todos los tratamientos realizados con hidrogeles de ALG se lista en la **Tabla I**. Obsérvese que los mayores valores obtenidos para este parámetro, llamado índice de eficiencia de DO, se obtuvieron para la condición jarabe de glucosa 60 °Bx, durante la primera media hora de tratamiento, seguida de las condiciones 40 y 60 °Bx de maltodextrina (0,5 y 1h). No obstante, independientemente del agente osmótico utilizado, se observa una mayor WL/SG a tiempos cortos de

tratamiento (0,5h). Esto supone una significativa reducción en los tiempos de tratamiento utilizando los agentes osmóticos y las concentraciones evaluadas en este trabajo. [Rodríguez et al. \(2016\)](#) realizaron la misma observación en su trabajo con bastoncitos de calabaza sometidos a tratamientos DO en soluciones de glucosa y sacarosa (40 y 60 °Bx).

Tabla I. Relación WL/SG para hidrogeles de alginato de calcio sometidos a diferentes condiciones de tratamiento.

Agente osmótico		WL/SG* (Promedio ± DE)		
		0,5h	1h	2h
40 °Bx	Sacarosa	2,3±0,1	2,2±0,3	1,8±0,0
	J. Glucosa	3,2±0,1	3,0±0,1	3,2±0,1
	Maltodextrina	3,9±0,0	4,1±0,5	3,3±0,9
60 °Bx	Sacarosa	3,1±0,3	2,4±0,2	2,3±0,1
	J. Glucosa	4,9±0,6	3,1±0,3	4,1±0,7
	Maltodextrina	3,8±0,3	3,6±0,4	3,4±1,0

*WL/SG: relación pérdida de agua (WL), ganancia de sólidos (SG) durante tratamientos de deshidratación osmótica (DO).

3.2 Parámetros característicos de DO para PEC

Los mayores valores de WR obtenidos para las muestras PEC sometidas a procesamiento a 40 °Bx y 60 °Bx, correspondieron a la condición maltodextrina: 41,4-46,1%, para 40 °Bx y 51,3-54,9%, para 60 °Bx. Por tanto, la tendencia fue similar a la obtenida para las muestras ALG. Los menores rangos para PEC, se encontraron entre 20,7 y 25,3% y correspondieron a la condición sacarosa-40 °Bx. Los valores de WR obtenidos para sacarosa, al incrementar la concentración de 40 a 60 °Bx, se encontraron en el rango 35,1-46,1%. Finalmente, la utilización de jarabe de glucosa a 40 °Bx produjo pérdidas de peso comprendidas entre 29,6 y 34,6%, mientras, a 60 °Bx, el rango de valores fue considerablemente superior (47,5-51,0%).

En la **Figura 3** se observan los resultados de WL y SG, obtenidos para recubrimientos de PEC sometidos a diferentes condiciones de tratamiento DO. Tal como sucedía para los geles ALG, las concentraciones más altas de solución osmótica (60 °Bx) dieron lugar a los mayores valores de WL y SG. Sin embargo, a diferencia de lo observado para ALG, los parámetros característicos de la DO se mantuvieron constantes en el tiempo (de 0,5 a 2h). En general, se obtuvieron valores de WL en el amplio rango de 39,4-61,7%, para 40 °Bx y en el estrecho rango de 68,1-74,8%, para 60 °Bx. Esto sugiere que las concentraciones osmóticas elevadas podrían influenciar significativamente al parámetro WL, incluso más que el tipo de agente osmótico utilizado o el tiempo de tratamiento. Los resultados obtenidos en este trabajo son del orden de los publicados por [Jalae et al. \(2011\)](#) quienes obtuvieron pérdidas de agua >60% y ganancia de

sólidos >40% al aplicar tratamientos de DO (sacarosa 60 °Bx, 30 °C, tiempo>100 min) a muestras de manzana recubiertas con pectina de bajo grado de metoxilación.

La utilización de soluciones osmóticas más concentradas, 60 °Bx, produjo un incremento significativo en WL: en el rango 48,3-72,8%, para sacarosa; 36,4-52,8% para jarabe de glucosa y 22,2-28,0% para maltodextrina, comparado con la aplicación de dichas soluciones a 40 °Bx. Con respecto a SG, mientras a 40 °Bx se observaron valores en el rango 12,7-23,7%, a 60 °Bx fueron de 18,0 a 32,8%.

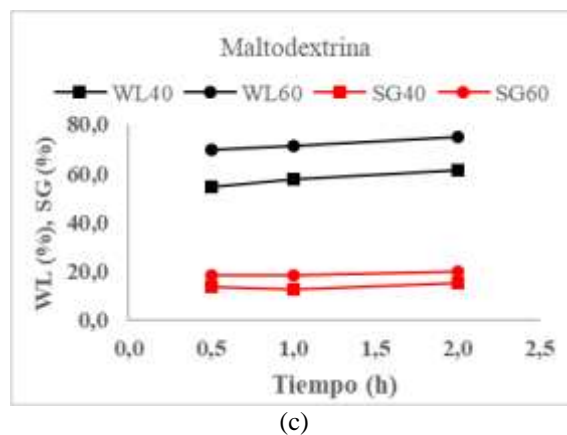
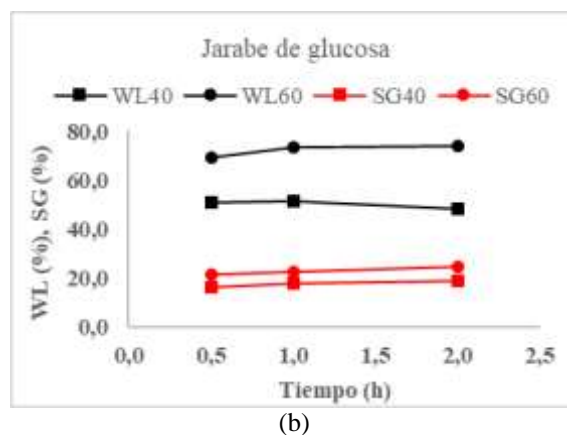
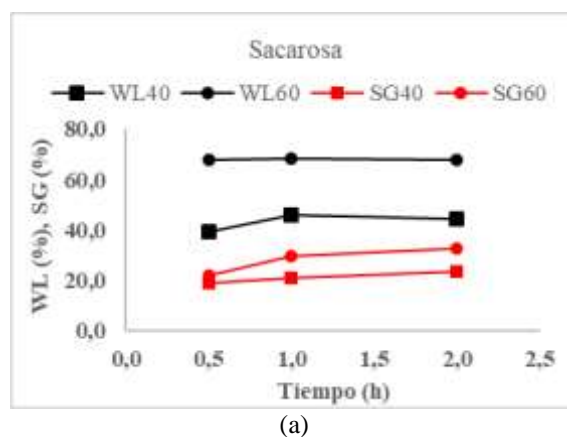


Figura 3. Parámetros de DO en función del tiempo de tratamiento para hidrogeles de pectina sometidos a soluciones osmóticas de (a) sacarosa, (b) jarabe de glucosa y (c) maltodextrina. WL40: pérdida de agua a 40 °Bx; WL60: pérdida de agua a 60 °Bx, SG40: ganancia de sólidos a 40 °Bx y SG60: ganancia de sólidos a 60 °Bx.

Dado que el salto en WL fue más notorio que la diferencia en SG, al incrementarse la concentración de las soluciones osmóticas de 40 a 60 °Bx, podría esperarse que los tratamientos que utilizaron soluciones más concentradas experimentaran una mejor relación WL/SG que aquellos que se sometieron a concentraciones menores. Esto se comprueba, parcialmente, en la **Tabla II**. Los mejores ratios WL/SG obtenidos para PEC correspondieron a la condición maltodextrina-40 °Bx (0,5-2 h), seguida de las condiciones equivalentes a 60 °Bx. En el resto de los casos, para cada tiempo y agente osmótico, los valores WL/SG obtenidos a 60 °Bx superaron a sus pares de 40 °Bx. El efecto de la maltodextrina sobre los parámetros WL y SG se explicaría por la mayor presión osmótica que genera un soluto de mayor peso molecular. Raoult-Wack et al. (1991) estudiaron el efecto de la pérdida de peso y la ganancia de sólidos en geles de agar y encontraron que WL aumentó de 50 a 85% y SG disminuyó de 50 a 0,5% después de 3h de tratamiento DO cuando el peso molecular del soluto aumentó de 87 a 20,000 dalton.

Tabla II. Relación WL/SG para recubrimientos de pectina sometidos a diferentes condiciones de tratamiento.

Agente osmótico		WL/SG* (Promedio ± DE)		
		0,5h	1h	2h
40 °Bx	Sacarosa	2,1±0,3	2,2±0,1	1,9±0,2
	J. Glucosa	3,2±0,0	2,9±0,1	2,6±0,2
	Maltodextrina	4,1±0,5	4,5±0,1	4,1±0,2
60 °Bx	Sacarosa	3,1±0,3	2,3±0,1	2,1±0,1
	J. Glucosa	3,2±0,5	3,3±0,1	3,0±0,1
	Maltodextrina	3,8±0,3	4,0±0,2	3,8±0,8

*WL/SG: relación pérdida de agua (WL), ganancia de sólidos (SG) durante tratamientos de deshidratación osmótica (DO).

4. Conclusiones

En este trabajo se caracterizaron geles de alginato de sodio y pectina, utilizando lactato de calcio como agente de entrecruzamiento, durante tratamientos de DO. Se utilizaron sacarosa, jarabe de glucosa y maltodextrina como agentes osmóticos, a concentraciones de 40 y 60 °Bx, durante 0,5 a 2h de tratamiento. De las condiciones ensayadas se pudo observar que ambos hidrogeles generaron un mecanismo de saturación rápida, con respecto a la SG, para los diferentes agentes osmóticos utilizados y que la maltodextrina fue el agente osmótico que produjo las mayores pérdidas de peso a 40 y 60 °Bx. Con respecto a la pérdida de humedad, la

maltodextrina a 60 °Bx produjo los valores más altos para ALG (74%) y PEC (75%). Asimismo, la condición maltodextrina-40 °Bx dio lugar a las menores ganancias de sólidos para ALG (16%) y PEC (24%). Respecto de la relación WL/SG, las condiciones maltodextrina a 40 y 60 °Bx, produjeron los valores más altos tanto para ALG como para PEC. Los resultados obtenidos aquí sugieren que la maltodextrina es un agente osmótico útil para incrementar la eficiencia de la DO cuando se utilizan hidrogeles de alginato de sodio y pectina como recubrimientos comestibles, reduciendo el ingreso de sólidos sin afectar la pérdida de humedad.

5. Referencias

- AOAC. 1997. Method 934.06. En: Helrich K. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 15va ed. Vol. 1. Arlington: Association of Official Analytical Chemists.
- Camirand, W.; Krochta, J.M.; Pavlath, A.E.; Wong, D. & Cole, M.E. 1992. Properties of some edible carbohydrate polymer coatings for potential use in osmotic dehydration. Carbohydrate Polymers 17, 39-49.
- Comaposada, J.; Gou, P.; Marcos, B. & Arnau, J. 2015. Physical properties of sodium alginate solutions and edible wet calcium alginate coatings. LWT-Food Science and Technology 64: 212-219.
- Djendoubi Mrad, N., Boudhrioua Mihoubi, N., Kechaou, N., Courtois, F., & Bonazzi, C. (2013). Effect of Osmo-dehydration Conditions on the Quality Attributes of Pears. Food Processing and Technology, 4(8), 4-9. <http://doi.org/10.4172/2157-7110.1000256>
- Galus, S. & Lenart, A., 2013. Development and characterization of composite edible films based on sodium alginate and pectin. *Journal of Food Engineering*, 115(4), pp.459-465. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.03.006>
- Jalae F, Fazeli A, Fatemian H, Tavakolipour H. 2011. Mass transfer coefficient and the characteristics of coated apples in osmotic dehydrating. Food and Bioproducts Processing, 89: 367-374.
- Khin MM, Zhou W, Perera CO. 2006. A study of the mass transfer in osmotic dehydration of coated potato cubes. *Journal of Food Engineering*, 77: 84-95.
- Lazarides. H.N.; Mitrakas, G.E.; Matsos, K.I. 2007. Edible coating and counter-current product/solution contacting: A novel approach to monitoring solid uptake during osmotic

- dehydration of a model food system. *Journal of Food Engineering* 82, 171-177.
- Marcos, B.; Gou, P.; Arnau, J. & Comaposada, J. 2016. Influence of processing conditions on the properties of alginate solutions and wet edible calcium alginate coatings. *LWT-Food Science and Technology* 74, 271-279.
- Matuska M, Lenart A, Lazarides HN. 2006. On the use of edible coatings to monitor osmotic dehydration kinetics for minimal solids uptake. *Journal of Food Engineering*, 72: 85-91.
- Mundada M, Hathan BS, Maske S. 2011. Mass transfer kinetics during osmotic dehydration of pomegranate arils. *Journal of Food Science*, 75: 31-39.
- Raoult-Wack, A.L., Guilbert, S. & LeMaguer, M., 1991. Simultaneous water and solute transport in shrinking media, *Applications of Osmotic dehydration. Drying Technology An International Journal*, 9, pp.589–612.
- Rastogi NK, Raghavarao KSMS, Niranjana K. 2014. Recent developments in Osmotic Dehydration (Chapter 11). En: *Emerging Technologies for Food Processing* (2nd Ed). London: Academic Press. pag 181-212.
- Rodriguez, A.; García, M.A. & Campañone, L. 2016. Experimental study of the application of edible coatings in pumpkin sticks submitted to osmotic dehydration. *Drying Technology*, 34 (6): 635-644.

51TCA. Emulsiones ácidas aceite en agua preparadas con concentrados proteicos de suero de tofu. Estudio de la estabilidad frente al trabajo mecánico.

Acid oil-in-water emulsions prepared with tofu-whey protein concentrates. Study of their stability under mechanical agitation

Johan S. Henao Ossa^{1,2}, Jorge R. Wagner^{1,3}, Gonzalo G Palazolo^{1,3}.

¹: Laboratorio de Investigación en Funcionalidad y Tecnología de Alimentos (LIFTA), Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes, Bernal, Provincia de Buenos Aires, Argentina²: Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT), Argentina³ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.
E-mail: jshenao@uqvirtual.edu.co

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue estudiar la estabilidad de emulsiones ácidas o/w preparadas con concentrados de suero de tofu (CST) frente a la agitación mecánica. Los CST se obtuvieron por tratamiento térmico con vacío parcial del suero de tofu a dos temperaturas diferentes (50, 80 °C), diálisis y liofilización (CST50 y CST80, respectivamente). Sobre dispersiones acuosas (pH 3,0-5,0) se determinaron, la solubilidad proteica y de hidratos de carbono (SP y SHC, respectivamente), la tensión interfacial de equilibrio (γ_{eq}) y la viscosidad compleja interfacial (η^*). Con las dispersiones se prepararon emulsiones o/w a concentración equivalente de proteína (1,0% P/P), empleando aceite refinado de girasol (25% P/P) como fase lipídica dispersa. A pH 4,0 y 5,0 los valores de diámetro promedio ($D_{4,3}$) de las emulsiones de ambos CST mostraron un incremento progresivo, siendo el grado de desestabilización levemente superior para CST80 a tiempos prolongados de agitación (> 20 min). En cambio, a pH 3,0, donde CST80 evidenció una SP < 45% P/P y una SHC casi ideal (> 95% P/P), las emulsiones resultantes fueron las más estables. Este resultado sería consistente con la formación de un film interfacial de alta η^* y un bajo tamaño promedio de partícula y grado de floculación.

Palabras clave: agitación mecánica, concentrados proteicos de suero de tofu, emulsiones o/w, estabilidad

Abstract

The aim of this work was to study the stability of acid oil-in-water emulsions prepared with tofu-whey protein concentrates (TWC) under mechanical stirring. TWC samples were prepared by thermal treatment of tofu-whey under partial vacuum at two different temperatures (50, 80 °C), subsequent dialysis and freeze-drying, giving the samples TWC50 and TWC80, respectively. The protein and carbohydrate solubility (SP and SHC, respectively), equilibrium interfacial tension (γ_{eq}) and complex interfacial viscosity (η^*) were measured on aqueous dispersions (pH 3.0-5.0). Moreover, emulsions were prepared at equivalent protein concentration (1.0% w/w) using refined sunflower oil as lipid phase (25% w/w). For TWC samples, at pH 4.0 and 5.0, particle mean diameters ($D_{4,3}$) showed an progressive increase; the destabilization degree was slightly higher for TWC80 emulsions at prolonged stirring times (> 20 min). Conversely, at pH 3.0, where TWC80 showed a SP value < 45% w/w and an almost ideal SHC value (> 95.0% w/w), the resultant emulsions showed the highest stability. The high stability of emulsions to mechanical stirring would be consistent with the formation of an interfacial membrane of high complex interfacial viscosity and low mean particle size and flocculation degree.

Keywords: mechanical stirring, o/w emulsions, stability, tofu-whey protein concentrates

1. Introducción

El tofu es un producto que se obtiene a partir de la leche de soja por precipitación de las proteínas de reserva con sales de calcio y/o magnesio (Balaban y Palermo, 1992; Sobral y Wagner, 2007). En este proceso se genera un efluente industrial llamado

suero de tofu (ST) que debido a su carga orgánica representa un importante problema ambiental. Por ende, la concentración del ST para reducir su contenido de agua y los costos asociados al transporte es una estrategia válida para mitigar el impacto ambiental negativo y permitir su utilización en sistemas alimentarios (Matemu *et al.*, 2009;

Belén *et al.*, 2012, 2013). El ST contiene fundamentalmente proteínas, polisacáridos solubles, oligosacáridos, sacarosa, sales y compuestos bioactivos, como las isoflavonas (Kao *et al.*, 2003). De acuerdo a estudios electroforéticos, el ST contiene proteínas como los inhibidores de tripsina de Kunitz, de Bowman-Birk, la lectina o hemaglutinina, reconocidos factores antinutricionales y subunidades de proteínas de reserva que no fueron precipitadas por las sales de calcio (Kao *et al.*, 2003). Afortunadamente, los factores antinutricionales son inactivados casi totalmente durante los tratamientos hidrotérmicos industriales de obtención del tofu, obteniendo valores residuales de actividad antitriptica. Además, el valor nutricional de las proteínas desnaturalizadas del ST es superior al de las proteínas de reserva, debido al mayor contenido relativo de aminoácidos azufrados (Kishi *et al.*, 1986; Sobral y Wagner, 2007).

Las proteínas son macromoléculas activas interfacialmente y se utilizan como agentes emulsificantes debido a su capacidad para facilitar la formación de emulsiones aceite en agua (o/w), producir cambios fisicoquímicos deseables y promover la estabilidad de las mismas (McClements, 2004). Entre las proteínas de soja, las de reserva han sido ampliamente estudiadas como agentes emulsificantes, pero existen escasos trabajos relacionados a las propiedades emulsificantes de las proteínas biológicamente activas siendo la mayoría realizados sobre las proteínas presentes en el suero de soja (Palazolo *et al.*, 2004, 2005, Ray y Rousseau, 2013; Li *et al.*, 2014). Las proteínas biológicamente activas representan una alternativa interesante para su aplicación en bebidas emulsionadas ácidas, ya que, a diferencia de las de reserva, tienen una solubilidad relativamente alta en un amplio rango de pH (Sorgentini y Wagner, 1999). Por otra parte, las emulsiones alimentarias son a menudo sometidas a tratamientos de estrés tecnológico durante su producción, transporte, almacenamiento y utilización (McClements, 2004). Entre estos tratamientos la agitación mecánica es uno de los más importantes y puede darse durante las etapas de elaboración y el transporte.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la estabilidad de emulsiones ácidas o/w preparadas con diferentes concentrados proteicos del suero de tofu frente al tratamiento mecánico. Se estudió la influencia de la temperatura de obtención del concentrado durante la etapa del tratamiento térmico con vacío parcial y del pH de la fase continua de la emulsión, en el rango de pH de interés alimenticio.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

El suero de tofu (ST) fue donado por la empresa (Soyana S.H., General San Martín, Buenos Aires, Argentina). Su contenido de sólidos totales, proteína bruta (N×6,25) y cenizas (% P/p) fue de $2,1 \pm 0,1$, $0,32 \pm 0,05$ y $0,44 \pm 0,04$, respectivamente. La albúmina sérica bovina (BSA, > 99%, libre de ácidos grasos) se adquirió a Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, Estados Unidos). El aceite refinado de girasol (Molinos Cañuelas, Buenos Aires, Argentina) se adquirió en un comercio local. Todos los reactivos empleados (Anedra, Research AG; Talar, Buenos Aires, Argentina) fueron de calidad analítica.

2.2. Preparación de concentrados de suero de tofu

El ST se concentró hasta lograr una reducción del 80% de su volumen inicial, empleando un rotavapor Heidolph OB Laborota 4000 (Heidolph Instruments, GmbH & Co.KG; Schwabach, Alemania) a 50 °C (60 mm Hg) y 80 °C (180 mm Hg); los líquidos resultantes se dializaron frente a agua destilada durante 48 hs a 4 °C con 3 cambios diarios de agua (Snake Skin, cut-off = 3,5 KDa, Thermo Scientific; Rockford, Estados Unidos). Finalmente, los sueros concentrados y dializados se liofilizaron obteniéndose las muestras CST50 y CST80 (Liofilizador L-I-2E260-CR, Rificor; Buenos Aires, Argentina).

2.3. Caracterización y determinación de la composición de los concentrados del suero de tofu (CST50 y CST80)

El contenido de proteína bruta se determinó por micro Kjeldahl (N×6,25) de acuerdo al método de Nkonge y Murray-Ballance (1982), empleando sulfato de amonio como patrón. El contenido de hidratos de carbono totales se determinó por el método de fenol-sulfúrico utilizando glucosa anhidra como patrón (Dubois *et al.*, 1956). El análisis termo gravimétrico se realizó utilizando una termobalanza modulada TGA-Q500 (TA Instruments, New Castle, DE, Estados Unidos). 5-10 mg de muestra se calentaron desde 20 °C a 700 °C ($10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$) bajo atmósfera de N₂ y de 700 °C a 900 °C ($10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$) en aire para determinar el contenido de humedad y cenizas, respectivamente (Arrieta *et al.*, 2012).

2.4. Determinación de la solubilidad proteica y de hidratos de carbono en función del pH

Se prepararon dispersiones en buffer fosfato de sodio 10 mM, pH 7,0 (0,1% P/v) con agitación se tomaron alícuotas de 10 ml ajustando el pH en el rango 3,0-5,0 con HCl 1,0 M y se centrifugaron a 10.000×g (25 min., 20°C, centrífuga Hermle 129 Z200 M/H, Hermle Labortechnik; Wehningen, Alemania). El contenido de proteína soluble se

determinó por el método de Markwell *et al.* (1978), empleando albúmina sérica bovina como proteína estándar y el de hidratos de carbono por el método de fenol-sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956), usando glucosa anhidra como estándar. Las solubilidades proteica (SP) y de hidratos de carbono (SHC) se expresaron como porcentaje en peso sobre la proteína e hidratos de carbono totales presentes en las dispersiones acuosas, respectivamente.

2.5. Reología interfacial de dispersiones.

Se evaluó utilizando un reómetro AR-G2 (TA Instruments, New Castle, DE, Estados Unidos) asociado a una geometría de anillo de Du Noüy. Se prepararon dispersiones acuosas (1,0% proteína P/P , buffer fosfato de sodio 10 mM, pH 7,0) en un vaso de precipitado de 6,7 mm de diámetro y se ajustó el pH en el rango 3,0-5,0 con HCl 1,0 M. Se hizo descender el anillo hasta hacer contacto la dispersión y posteriormente se fijó a una altura constante para garantizar la reproducibilidad de las medidas. Luego se vertió cuidadosamente el aceite y se realizaron mediciones de oscilación de cizalla a 25 °C, a una frecuencia constante de 0,3 Hz y una deformación del 3,0%, dentro del rango de viscoelasticidad lineal (Cabezas *et al.*, 2017). Para seguir la evolución global de la adsorción interfacial se registraron los módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') en función del tiempo y la viscosidad compleja (η^* , Pa·s) se calculó por medio de la ecuación:

$$\eta^*(\omega) = [(G')^2 + (G'')^2]^{0,5} / \omega \quad (1)$$

donde ω es la frecuencia angular (Baldursdottir *et al.*, 2010). En los perfiles de viscosidad compleja vs tiempo, se registraron los valores de η^* en el momento en que modulo tomo el mayor valor.

2.6. Tensión interfacial de equilibrio

Se prepararon dispersiones acuosas 0,25% proteína P/V en buffer fosfato de sodio 10 mM pH 7,0 ajustando posteriormente el pH en el rango 3,0-5,0 con HCl 1,0 M. Se empleó un tensiómetro de anillo Lauda TD3 (Lauda DR. R. Wobser GmbH & Co., Königshofen, Alemania). Las medidas de tensión interfacial de equilibrio (γ_{eq}) se realizaron automáticamente fijando la amplitud constante de movimiento del anillo en la dispersión acuosa y luego agregando el aceite refinado de girasol.

2.7. Preparación de emulsiones o/w.

Las emulsiones aceite en agua se obtuvieron mezclando 15 g de dispersión acuosa (1,0% proteína, P/P en buffer fosfato de sodio 10 mM ajustadas a pH 3,0, 4,0 y 5,0 con HCl 1,0 M) con 5 g de aceite refinado de girasol, por un proceso de homogeneización en dos etapas consecutivas: 1)

Homogeneización a alta velocidad (dispositivo rotor/estator Ultraturrax T-25, IKA Labortechnik, Staufen, Alemania) a 20.000 rpm durante 1 min y 2) Homogeneizador ultrasónico de alta intensidad Sonic Vibracell 750VCX (20 kHz) durante 3 minutos operando con una amplitud de 40%. La homogeneización ultrasónica se realizó en baño de agua-hielo para permitir la disipación eficiente del calor generado durante la misma.

2.8. Tratamiento de agitación mecánica de emulsiones

Las emulsiones se sometieron a un tratamiento mecánico empleando un agitador orbital (Ferca TT400; Ferca Equipamientos, Buenos Aires, Argentina) a 275 rpm, durante 60 min. Se tomaron alícuotas cada 10 min con el objetivo de monitorear la desestabilización de la emulsión por medio de la determinación del tamaño promedio de partícula (sección 2.10).

2.9. Comportamiento de flujo de emulsiones.

El comportamiento de flujo de las emulsiones se realizó en un reómetro AR-G2 (TA Instruments, New Castle, DE, Estados Unidos) asociado a una geometría cono-plato de 40 mm de diámetro y ángulo de 2° a una temperatura constante de 25 ± 1°C. Para cada muestra se realizó un incremento de velocidad de deformación de 0,01 a 200 s⁻¹. Los ensayos se realizaron por duplicado y las emulsiones previamente al ensayo se dejaron en reposo durante 2 min para equilibrar la temperatura. Los datos obtenidos se ajustaron al modelo reológico de Hershel-Bulkley según la siguiente ecuación:

$$\tau = \tau_0 + K \cdot \dot{\gamma}^n \quad (2)$$

τ_0 : es el esfuerzo umbral (Pa), $\dot{\gamma}$ es velocidad de deformación (s⁻¹) y los parámetros K (Pa·s) y n (sin unidades) son los índices de consistencia y de comportamiento de flujo, respectivamente (Muller, 1973).

2.10. Distribución de tamaño de partícula de emulsiones

La distribución de tamaño de partícula (DTP) de las emulsiones iniciales y sometidas a tratamiento de agitación (sección 2.9) se obtuvieron por dispersión estática de luz empleando un analizador de tamaño de partícula Malvern Mastersizer 2000E (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, Reino Unido) asociado a una unidad de dispersión por vía húmeda (Hydro 2000 MU). Las medidas se realizaron en agua como dispersante y la velocidad del agitador en la unidad de dispersión fue de 2000 rpm. Además, para evaluar la formación de flóculos, antes de la medida de DTP se aplicó ultrasonido (1 min, 40% de

amplitud). Los parámetros ópticos seleccionados para la conversión del patrón de dispersión angular de luz en la correspondiente DTP fueron: índices de refracción de la fase dispersa y del dispersante, 1,47 y 1,33, respectivamente; coeficiente de absorción de la partícula, 0,01. A partir de la DTP, expresada como volumen diferencial, se obtuvieron los diámetros promedio de Sauter ($D_{3,2}$) y de De Brouckere ($D_{4,3}$) empleando el software asociado al equipo (Mastersizer 2000, versión 5.54, Malvern Instruments; Worcestershire, Reino Unido).

2.11. Análisis estadístico

Todos los análisis se realizaron por triplicado ($n=3$) y los resultados se expresaron como promedio \pm desvío estándar. El análisis estadístico se realizó por análisis de varianza y la prueba de mínima diferencia significativa (Test de Fisher, $p < 0,05$) utilizando el programa estadístico Statgraphics centurión XV (Statpoint Technologies, Inc., 2010, Virginia, Estados Unidos).

3. Resultados y Discusión

La composición química de las muestras se observa en la Tabla 1. El concentrado obtenido a mayor temperatura durante la etapa de concentración (CST80) evidenció valores significativamente superiores de proteína bruta, humedad y cenizas ($p < 0,05$) con respecto al de CST50, en tanto que el contenido de hidratos de carbono totales fue similar ($p > 0,05$). Los hidratos de carbono presentes en ambas muestras serían polisacáridos, ya que la sacarosa y los oligosacáridos (fundamentalmente rafinosa y estaquiosa) se perderían en la diálisis luego de la etapa de concentración debido a su bajo peso molecular.

Tabla 1. Composición química (% P/P) de los concentrados de suero de tofu, CST50 y CST80.

Muestra	CST50	CST80
Proteína bruta (N \times 6,25)	33,4 \pm 0,1 ^a	42,8 \pm 0,1 ^b
Hidratos de carbono totales	39,0 \pm 0,4 ^a	38,0 \pm 0,7 ^a
Humedad	10,5 \pm 0,2 ^a	9,7 \pm 0,1 ^b
Cenizas	8,4 \pm 0,1 ^a	9,6 \pm 0,2 ^b

Los valores de cada parámetro seguido con letras minúsculas diferentes en la misma fila, son significativamente diferentes de acuerdo al Test de Fisher ($p < 0,05$)

Debido a la ausencia de almidón en la soja, los polisacáridos serían de naturaleza no amilácea; los mismos permanecieron solubles en el ST luego de los tratamientos hidrotérmicos realizados durante la obtención industrial del tofu. Con respecto a la

solubilidad proteica (SP) y de hidratos de carbono (SHC), se puede observar que el comportamiento de ambas muestras fue marcadamente diferente. CST80 exhibió una SP inferior a la de CST50 en todo el rango de pH, tomando en ambos casos un valor mínimo a pH 4,0. Además, cabe destacar que los valores de SP en el rango 3,0-5,0 fueron inferiores a aquellos obtenidos a pH más elevados (6,0 y 7,0, resultados no mostrados) por lo que las proteínas presentes en ambos concentrados adoptarían carga neta nula en esos valores de pH.

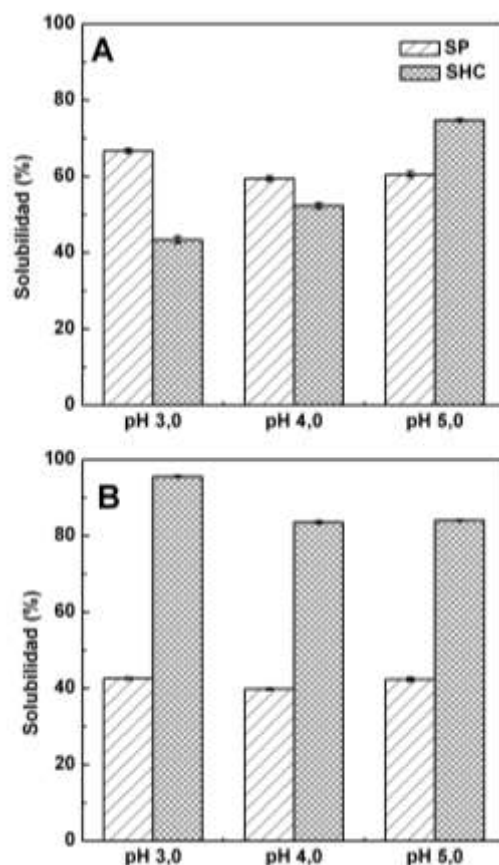


Figura 1. Variación de la solubilidad proteica (SP) y de hidratos de carbono (SHC) en función del pH para concentrados proteicos de tofu: A) CST50, B) CST80

Para la SHC, la tendencia fue opuesta observándose mayores valores de este parámetro para el concentrado obtenido a la mayor temperatura (Figura 1). No obstante, para cada muestra particular, la variación de la SHC mostró una tendencia diferente en función del pH. Para CST50, se obtuvo un valor mínimo a pH 3,0 ($< 44\% P/P$, Figura 1A) mientras que para CST80 la SHC tomó un valor máximo y casi ideal al mismo pH ($> 95\% P/P$, Figura 1B). Kao *et al.* (2003), en ensayos de electroforesis (tricina SDS-PAGE), observaron la existencia de una amplia proporción de proteínas y péptidos de bajo peso molecular en la composición polipeptídica del ST (< 16 kDa). El calentamiento

del ST a mayor temperatura promovería un mayor grado de agregación mediado por interacciones hidrofóbicas, minimizando la pérdida de péptidos en la etapa de diálisis. Esta agregación, promovida seguramente por la presencia de proteínas desnaturalizadas en el ST de partida, sería consistente no sólo con la disminución de la SP sino también con el incremento del contenido de proteína bruta de la muestra CST80 en relación con la de CST50 (Figura 1; Tabla 1). Además, teniendo en cuenta el comportamiento de los polisacáridos existiría un mayor grado de interacción con las proteínas en la muestra CST50. Al realizar la concentración a la mayor temperatura (80 °C), en cambio, las interacciones proteína-proteína serían lo suficientemente importantes para disminuir la interacción con las moléculas de polisacáridos, lo cual es consistente al analizar comparativamente la SHC en ambos concentrados. Por otro lado, también se evaluó el comportamiento interfacial de cada concentrado a cada pH (3,0, 4,0 y 5,0) a través de la determinación de la tensión interfacial de equilibrio (γ_{eq}) y la viscosidad compleja interfacial (η^*) (Tabla 2)

Tabla 2. Variación de la tensión interfacial de equilibrio (γ_{eq}) y la viscosidad compleja interfacial (η^*) con el pH para dispersiones preparadas con concentrados proteicos de tofu, CST50 y CST80.

Parámetros	pH	CST50	CST80
γ_{eq} (mN/m)	5,0	12,3 ± 0,2 ^{a,A}	12,6 ± 0,2 ^{a,A}
	4,0	12,4 ± 0,2 ^{a,A}	12,3 ± 0,1 ^{a,A}
	3,0	11,8 ± 0,3 ^{a,B}	13,1 ± 0,1 ^{b,B}
$\eta^* \cdot 10^{-5}$ (Pa·s)	5,0	1,7 ± 0,2 ^{a,A}	1,6 ± 0,2 ^{a,A}
	4,0	1,2 ± 0,6 ^{a,A}	1,4 ± 0,1 ^{a,A}
	3,0	1,1 ± 0,2 ^{a,A}	2,5 ± 0,1 ^{b,B}

Para cada parámetro (γ_{eq} o η^*) al mismo pH, los valores seguidos con letras minúsculas diferentes en la misma fila, son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Para cada concentrado (CST50 y CST80), los valores de cada parámetro (γ_{eq} o η^*) seguido por letras mayúsculas diferentes en la misma columna, son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

A pesar del diferente comportamiento de ambos concentrados en cuanto a la SP y la SCH, a pH 4,0 y 5,0 no se observaron diferencias significativas entre los valores de γ_{eq} y η^* . En cambio a pH 3,0 se observaron diferencias en la reología interfacial. Para CST50, la mayor interacción de las proteínas y los polisacáridos formaría especies que tienden a disminuir levemente γ_{eq} aunque el film interfacial formado tiene menor η^* (Tabla 2).

Con los concentrados anteriores, se prepararon emulsiones o/w a concentración equivalente de proteína en la fase continua (1,0% P/p) a pH 3,0, 4,0 y 5,0 para evaluar posteriormente la estabilidad frente al trabajo mecánico. Las distribuciones de

tamaño de partícula de las emulsiones, expresadas como porcentaje en volumen, se muestran en la Figura 2.

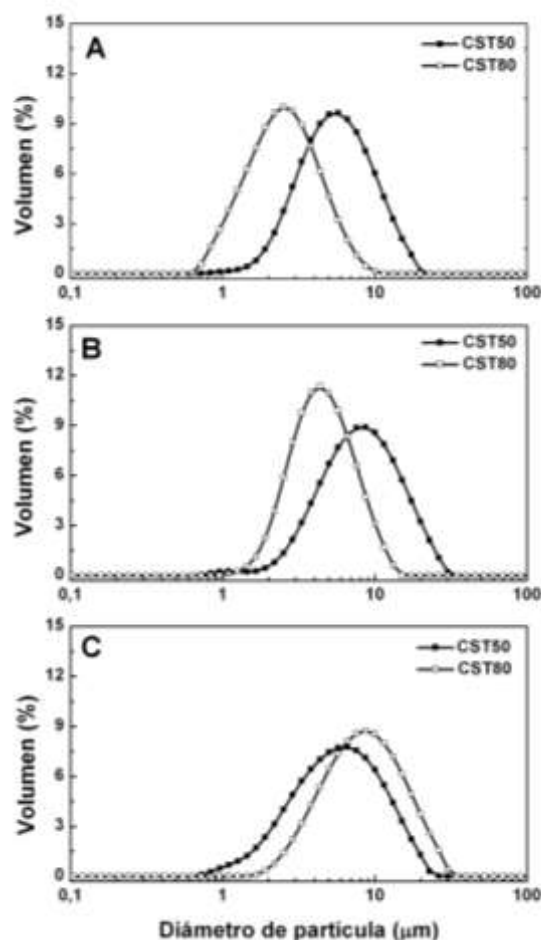


Figura 2. Distribución de tamaño de partícula de emulsiones o/w preparadas con concentrados proteicos del suero de tofu, CST50 y CST80. A) pH 3,0, B) pH 4,0 y C) pH 5,0.

En todos los casos las DTP fueron prácticamente monomodales. No obstante, a pH 3,0 y 4,0 las emulsiones CST80 evidenciaron poblaciones de partículas con modas menores respecto a las preparadas con CST50 (Figuras 2A y B). En cambio, a pH 5,0, se observó una tendencia opuesta (Figura 2C). Esto se puede evidenciar analizando comparativamente la variación de los diámetros promedio $D_{3,2}$ en función del pH para las emulsiones preparadas con ambos concentrados. Para las emulsiones CST80, $D_{3,2}$ decreció en el orden pH 5,0 > pH 4,0 > pH 3,0 (Tabla 3).

Cabe destacar que en todos los casos se ha detectado la presencia de flóculos, evidenciados por microscopía óptica (resultados no mostrados). No obstante, el grado de floculación no pudo ser eficientemente evaluado midiendo las DTP en presencia de dodecil sulfato de sodio (SDS) como en trabajos previos (Palazolo *et al.*, 2005),

presumiblemente debido al efecto negativo de la presencia de polisacáridos en la interfase aceite/agua. En emulsiones preparadas con polisacáridos activos superficialmente como emulsificantes, el tratamiento de sonicación realizado en la unidad de dispersión del analizador de tamaño de partícula produce una disociación de los agregados formados (Cabezas *et al.*, 2017). En nuestro trabajo la aplicación de ultrasonido para disociar los flóculos produjo una disminución de 20, 16 y 15% de los valores de $D_{3,2}$ para CST50 a pH 3,0, 4,0 y 5,0, respectivamente; en tanto que para el otro concentrado estas disminuciones fueron 11, 34 y 47%, a pH 3,0, 4,0 y 5,0 respectivamente.

Además, la intensidad de las interacciones entre las partículas presentes en la emulsión se puede analizar indirectamente mediante ensayos de comportamiento de flujo, los cuales, a diferencia de las medidas de DTP, no requieren dilución previa. De acuerdo al modelo de Hershel-Bulkley, el índice de consistencia (K) y el valor de esfuerzo umbral (τ_0) fueron muy superiores para la emulsión CST80 a pH 5,0, lo que estaría de acuerdo la mayor diferencia de $D_{3,2}$ entre las emulsiones sin sonicación y sonicadas. El valor significativamente menor a 1 para n, sería también indicativo de un comportamiento pseudoplástico.

Tabla 3. Diámetro promedio de Sauter ($D_{3,2}$) y parámetros reológicos de Hershel-Bulkley (esfuerzo umbral, τ_0 , índice de consistencia, K, e índice de comportamiento de flujo, n) de emulsiones o/w preparadas con concentrados proteicos del suero de tofu (CST50 y CST80) sin tratamiento de agitación.

Parámetros	pH	CST50	CST80
$D_{3,2}$ (μm)	5,0	4,1 \pm 0,1	6,5 \pm 0,0
	4,0	5,9 \pm 0,0	3,8 \pm 0,0
	3,0	4,4 \pm 0,0	2,0 \pm 0,0
τ_0 (Pa)	5,0	0,020 \pm 0,007	0,240 \pm 0,090
	4,0	0,016 \pm 0,002	0,090 \pm 0,060
	3,0	0,017 \pm 0,008	0,018 \pm 0,004
K (Pa·s)	5,0	0,024 \pm 0,003	0,265 \pm 0,100
	4,0	0,016 \pm 0,006	0,097 \pm 0,010
	3,0	0,009 \pm 0,002	0,005 \pm 0,000
n (sin unidades)	5,0	0,73 \pm 0,04	0,63 \pm 0,04
	4,0	0,81 \pm 0,06	0,50 \pm 0,01
	3,0	0,88 \pm 0,03	0,90 \pm 0,01

Por el contrario, a pH 3,0 la emulsión CST80 exhibió valores muy bajos de K y τ_0 y un comportamiento casi newtoniano, acorde a la baja disminución de los valores de $D_{3,2}$ luego de la sonicación (~ 11%).

La Figura 3 muestra la variación de los valores de diámetro promedio de De Brouckere ($D_{4,3}$) en

función del tiempo de tratamiento mecánico para las emulsiones preparadas con ambos concentrados en el rango de pH 3,0-5,0. En emulsiones alimentarias aceite en agua, los diámetros promedio $D_{4,3}$ son más sensibles frente a la presencia de partículas de mayor tamaño, las cuales se generan por coalescencia y floculación durante la desestabilización de estos sistemas dispersos (Relkin y Sourdet, 2005).

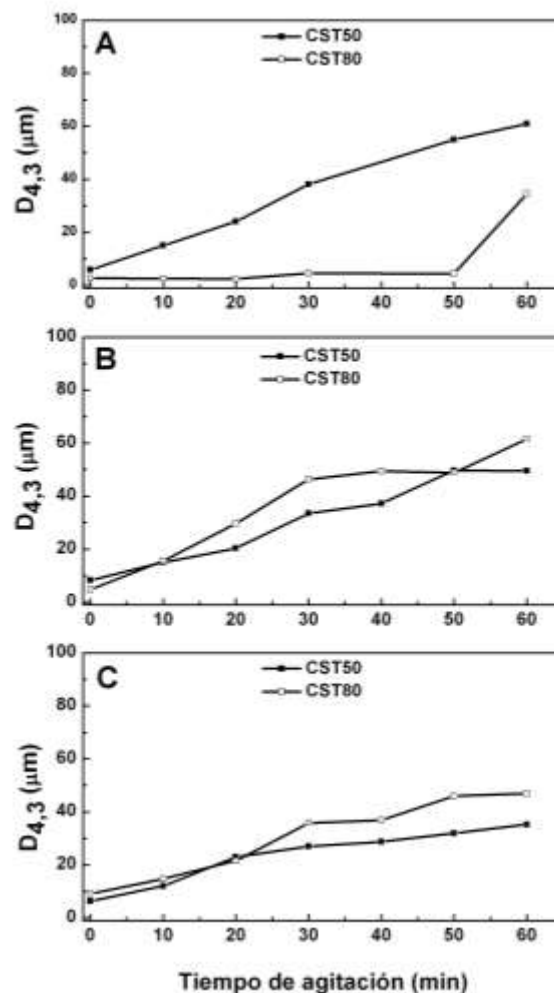


Figura 3. Variación del diámetro promedio de De-Brouckere ($D_{4,3}$) con el tiempo de agitación orbital de emulsiones o/w preparadas con concentrados proteicos del suero de tofu, CST50 y CST80. A) pH 3,0, B) pH 4,0 y C) pH 5,0.

A pH 3,0 se observó una diferencia notable en el grado de desestabilización de las emulsiones CST50 y CST80, siendo marcadamente más estables las preparadas con el concentrado obtenido a mayor temperatura. A los 50 minutos de agitación, el incremento de $D_{4,3}$ para las emulsiones CST50 y CST80 fue de 1,6 y 10 veces, respectivamente. (Figura 3A). En cambio, a pH 4,0 y 5,0 se observó un incremento sostenido de $D_{4,3}$ en función del tiempo para las emulsiones preparadas con ambos concentrados, mostrando en ambos casos una

estabilidad levemente superior para las emulsiones CST50 a tiempos prolongados de agitación (> 20 min) (Figuras 3B y C). De acuerdo a McClements (2004), el tratamiento mecánico en las emulsiones aumenta marcadamente la frecuencia de colisión entre las gotas. Bajo condiciones de trabajo mecánico, la estabilidad de una emulsión dependerá de la eficiencia de colisión, la cual se incrementa cuando un evento de choque entre dos o más gotas conduce a la floculación o a la coalescencia. En este contexto, la mayor estabilidad de la emulsión CST80 frente a la agitación a pH 3,0 estaría directamente relacionada al menor valor de $D_{3,2}$ inicial, menor grado de floculación y la formación de un film interfacial de mayor η^* , observado en experimentos reológicos en interfase plana (Figura 2; Tablas 2 y 3). La presencia de floculos y gotas individuales de mayor tamaño y concomitantemente, la formación de film interfacial menos resistente al estrés impuesto por el trabajo mecánico, incrementaría la susceptibilidad a la desestabilización de las emulsiones, lo cual se observó efectivamente para las emulsiones CST80 a pH 4,0 y 5,0 y las preparadas con CST50 a los tres valores ensayados de pH.

4. Conclusiones

En el presente trabajo se mostró que la temperatura de obtención influyó marcadamente en la composición química de los concentrados y en la variación de la solubilidad proteica y de hidratos de carbono en función del pH, evidenciando tendencias opuestas para los dos concentrados obtenidos. Las muestras obtenidas por concentración a mayor temperatura (80°C), con una solubilidad proteica más baja y una solubilidad casi ideal de los polisacáridos, formaron films interfaciales con mayor viscoelasticidad a pH 3,0, que no se reflejó en una menor tensión interfacial en el equilibrio. Las emulsiones resultantes, exhibieron un menor tamaño promedio de partícula y grado de floculación, lo cual fue determinante para incrementar su estabilidad frente a la agitación mecánica. Debido a la complejidad de la composición y al diferente comportamiento de los concentrados en base a la variación de la solubilidad proteica, de hidratos de carbono y de los parámetros interfaciales en función del pH, se requerirían más estudios relacionados a la interacción entre proteínas y polisacáridos en la fase acuosa y a nivel interfacial. Estos ensayos permitirían elucidar el mecanismo molecular de la desestabilización bajo condiciones de trabajo mecánico. Aun así, los resultados obtenidos en el presente trabajo representan un punto de partida para la valorización del suero de tofu y la potencial aplicación de los concentrados en emulsiones ácidas sometidas a tratamientos de estrés tecnológico en el rango de pH de interés alimenticio.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la empresa Soyana S.H. (General San Martín, Provincia de Buenos Aires, Argentina) por el suministro de suero de tofu. Los autores también agradecen el apoyo financiero de la Universidad Nacional de Quilmes (Programa I+D PUNQ 053/1037) y la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICT 2014-1267).

5. Referencias

- Arrieta, M.P.; Peltzer, M.A; Garrigos, M.; Jimenez, A. (2012). *Structure and mechanical properties of sodium and calcium caseinate edible active films with carvacrol*, Journal of Food Engineering, 114, 486-494.
- Balaban, S.M.; Palermo, J.S. (1992). *Soybeans and Soybean Processing*. In Encyclopedia of Food Science and Technology by Y.H. Hui, pp 2389-2396. John Wiley & Sons, Inc, New York.
- Balsdurdottir, S.G.; Fullerton, M.S.; Nielsen, S.H.; Jorgensen, L. (2010). *Adsorption of proteins at the oil/water interface. Observation of protein adsorption by interfacial shear stress measurements*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 79, 41-46.
- Belén, F. y otros 7 autores (2013). *Behavior of functional compounds during freeze concentration of tofu whey*. Journal of Food Engineering, 116, 681-688.
- Belén, F.; Sánchez, J.; Hernández, E.; Auleda, J.M.; Raventós, M. (2012). *One option for the management of wastewater from tofu production: freeze concentration in a falling-film system*. Journal of Food Engineering, 110, 364-373.
- Cabezas, D.M.; Pereira Ortiz, M.; Wagner, J.R.; Porfiri, M.C. (2017). *Effect of salt content and type on emulsifying properties of hull soy soluble polysaccharides at acidic pH*. Food Research International, 97, 62-70.
- Dubois, M.; Gilles, K. H.; Hamilton, J.; Rebers, F.; Smith, F. (1956). *Colorimetric method for determination of sugars and related substances*. Analytical Chemistry, 28, 349-356.
- Kao, F.-J.; Su, N.-W.; Lee, M.-S. (2003). *Effect of calcium sulfate concentration in soymilk on the microstructure of firm tofu and the protein constitutions of tofu-whey*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51(21), 6211-6216.
- Kishi, K.; Terai, S.; Ooguri, S.; Shizuka, F.; Yamamoto, S.; Inoue G. (1986). *Nutritive value of soybean whey proteins in young rats and human adults*. Nutrition Science of Soy Protein (Japan), 7: 47-52.

- Li, R.; Wu, Z.; Wang, Y.; Liu, W. (2014). *Pilot study of recovery of whey soy proteins from soy whey wastewater using batch foam fractionation*. Journal of Food Engineering, 142, 201-209.
- Markwell, M. A. K.; Haas, S.; Bieber, L. L.; Tolbert, N. E. (1978). *A modification of the Lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples*. Analytical Biochemistry, 87: 206-210.
- McClements, D.J. (2004). *Protein-stabilized emulsions*. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 9, 305-313.
- Muller, H.G. (1973) *Introducción a la reología de los alimentos*. Editorial Acribia, Zaragoza, España.
- Nkonge, C.; Murray Balance, G. *A sensitive colorimetric procedure for nitrogen determination in Micro-Kjeldahl digests*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 30(3), 416-420.
- Palazolo, G.G.; Sorgentini, D.A.; Wagner, J.R. (2004). *Emulsifying properties and surface behavior of native and denatured whey soy proteins in comparison with other proteins. Creaming stability of oil-in-water emulsions*. Journal of the American Oil Chemists' Society. 81 (7), 625-632.
- Palazolo, G.G., Sorgentini, D.A.; Wagner, J.R. (2005). *Coalescence and flocculation in o/w emulsions of native and denatured whey soy proteins in comparison with soy protein isolates*. Food Hydrocolloids, 19, 595-604.
- Ray, M.; Rousseau, D. (2013). *Stabilization of oil-in-water emulsions using mixtures of denatured soy whey proteins and soluble soybean polysaccharides*. Food Research International, 52, 298-307.
- Relkin, P.; Sourdret, S. (2005). *Factors affecting fat droplet aggregation in whipped frozen protein-stabilized emulsions*. Food Hydrocolloids, 19, 503-511-
- Sobral, P. A.; Wagner, J. R. (2007). *Thermal properties of soybean whey and its proteins*. In Functional properties of food components, by C.E. Lupano, pp. 57-76. Research Signpost, Kerala, India.
- Sorgentini, D.A.; Wagner, J.R. (1999). *Comparative study of structural characteristics and thermal behavior of whey and isolate soybean proteins*. Journal of Food Biochemistry, 23, 489-507.

52TCA. Control estadístico de proceso aplicado en la industria avícola.

Statistical process control applied in the poultry industry.

Silvia Simón¹, Miriam Ferrari¹, María Julieta Cuaglia², Mercedes Carnero¹.

1. UNRC. Ruta Nacional 8 km 601, Río Cuarto, Córdoba, Argentina. ssimon@ing.unrc.edu.ar
2. Brf. Ruta Nacional 8 km 585, Río Cuarto, Córdoba, Argentina. maria.cuaglia@brf-latam.com.

Resumen

El control estadístico de proceso es una herramienta eficaz para mejorar la calidad de los productos en las industrias. En el presente trabajo se desarrolla una metodología para el control estadístico y evaluación de la capacidad en una industria avícola. El problema se enfoca en el proceso de elaboración de pata-muslo y se selecciona como variable de estudio el rendimiento de la familia pata-muslo. Se consideran los datos correspondientes al período comprendido entre los meses de agosto de 2016 y julio de 2017. Se realiza un análisis descriptivo de la variable rendimiento y se construyen las cartas de control X y R. Se calcula la capacidad del proceso y se observa un comportamiento diferente en los dos semestres analizados. El estudio realizado por semestre permite comprobar que los valores reportados de 12% para el índice de inestabilidad y valores de 0.91 y 0.82 para la capacidad del proceso son aceptables. Se concluye que es importante realizar un plan de mejora continua a los efectos de convertir el proceso actual tipo C, en un proceso capaz y estable tipo A.

Palabras clave: estabilidad, capacidad, industria avícola.

Abstract

The statistical process control is an effective tool to improve the quality of the products in the industries. In the present work a methodology for the statistical control and evaluation of the capacity in a poultry industry is developed. The problem focuses on the leg-thigh process and the performance of the leg-thigh family is selected as a study variable. The data corresponding to the period between the months of August 2016 and July 2017 are considered. A descriptive analysis of the performance variable is carried out and control charts X and R are constructed. The capacity of the process is calculated and a different behavior in the two semesters analyzed. The study carried out by semester allows to verify that the reported values of 12% for the instability index and values of 0.91 and 0.82 for the capacity of the process are acceptable. It is concluded that it is important to carry out a continuous improvement plan in order to convert the current type C process into a capable and stable type A process

Keywords: stability, capacity, poultry industry.

1. Introducción

Se define el Control Estadístico de Procesos (CEP) como la aplicación de los métodos estadísticos a la medición y análisis de la variación en cualquier proceso. Un proceso es una combinación única de máquinas, herramientas, métodos, materiales y personas que logran una producción de bienes, software o servicios. Los procesos tienen variables de salida o de respuesta, las cuales deben cumplir con ciertas especificaciones a fin de considerar que está funcionando de manera satisfactoria. La variabilidad natural o ruido es el efecto acumulativo de muchas pequeñas causas, esencialmente incontrolables. Esta variabilidad natural se denomina causas comunes o aleatorias de variabilidad y un proceso que opera en estas condiciones se dice que está en control estadístico. Existen otras fuentes de variabilidad que no están de manera permanente en el proceso y que pueden ser identificadas y eliminadas. Estas causas se denominan atribuibles o especiales. Si la variabilidad es muy grande en relación con la variabilidad natural y es originada por causas especiales, el proceso opera fuera de control estadístico (Montgomery, 2009). El objetivo del CEP es eliminar o reducir al mínimo posible la variabilidad del proceso.

Los diagramas de control fueron desarrollados por Walter A. Shewhart en 1924. Es una de las técnicas estadísticas más importante y ampliamente utilizada para el control estadístico de los procesos. La implementación de la metodología de gráficos de control, en diferentes puntos del proceso y para diferentes variables críticas de calidad permite monitorear el proceso y tomar acciones correctivas y preventivas a tiempo para mantener o restaurar la estabilidad del proceso. No se requiere llevar un gráfico de control para cada variable de proceso, en general se acostumbra llevarlo solo para aquellas variables críticas y determinantes de características de calidad final del proceso.

Existen diversos tipos de gráficos para diferentes casos de control, según distintas pautas de variabilidad, todos ellos con características comunes e interpretándose de la misma manera, considerándose el gráfico de control como la prueba de una hipótesis. Existen dos tipos de gráficos: de atributos y de variables.

Los gráficos de control por atributos son utilizados cuando el interés está centrado en evaluar una propiedad general de un producto que permite clasificarlo como aceptable o no aceptable. Por otra parte, los gráficos de control por variables permiten estudiar la calidad de las características numéricas. El nombre de variable se aplica a todas aquellas características mensurables como longitud,

diámetro, peso, volumen, etc. En general en estos casos se monitorea tanto el valor medio de la variable de interés como su variabilidad. A estos gráficos se los denomina cartas de control X-R. Si bien una de las suposiciones más comunes para la construcción de los gráficos, es la de normalidad de los datos, es posible la elaboración de éstos si se conoce la distribución de la población de la cual proviene la muestra. No obstante, desviaciones no tan marcadas del supuesto de normalidad son toleradas dada la robustez de la técnica empleada, (Montgomery, 2009).

La capacidad de un proceso consiste en conocer la amplitud de la variación natural de éste para una característica de calidad dada, lo cual permitirá saber en qué medida la característica de calidad es satisfactoria (cumple especificaciones). Un proceso es capaz, con independencia de su estabilidad, si el nivel de disconformidades es suficientemente bajo como para garantizar que no habrá que hacer esfuerzos para disminuirlas y mejorar su capacidad. Para calcular los índices de capacidad la falta de normalidad puede conducir a una sobrestimación o subestimación de la capacidad verdadera, dependiendo de la distribución real que posean los datos. Es común que las variables de proceso no sigan este patrón de normalidad, y bajo esa situación existen dos alternativas. Una de ellas consiste en encontrar una distribución de probabilidad que ajuste los datos y luego se calculan los índices, y la otra opción es transformarlos.

Una de las tareas básicas para caracterizar y mejorar un proceso es evaluar su estado en cuanto a su capacidad y estabilidad, ya que en función de esto el proceso tendrá cuatro categorías, y para cada una de éstas se recomiendan estrategias de mejora diferentes. Un proceso puede presentar algunos de los siguientes cuatro estados: capaz-estable (A), capaz-inestable (B), incapaz-estable (C), o incapaz – inestable (D) (Gutiérrez Pulido, 2010).

La industria BRF Río Cuarto, situada en el área industrial que rodea a la Universidad Nacional de Río Cuarto, es una planta procesadora de alimentos de origen avícola. Uno de los productos principales de dicha industria es la denominada familia pata muslo siendo el rendimiento de dicha familia una de las características más relevantes en la calidad del proceso. La pérdida de rendimiento en pata-muslo se corresponde principalmente con la pérdida de carne en el hueso y el decomiso de pollos por eviscerado. En dicha industria si bien se implementan planes de mejora continua, es de su interés realizar un estudio más profundo de esta etapa del proceso con el objetivo de implementar un CEP para el mismo, a los efectos de reducir la pérdida de producto y por lo tanto incrementar el beneficio económico.

Si bien en la literatura, pueden encontrarse numerosas aplicaciones del CEP a diferentes tipos de industria, no aparecen estudios sobre el rendimiento de la pata muslo en la industria avícola.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar aspectos generales del CEP en la producción de la familia pata muslo en una industria avícola de la región y caracterizar el estado del proceso en cuanto a su capacidad y estabilidad a los efectos de sugerir estrategias de mejora.

En la siguiente sección se muestra la metodología empleada, en la sección 3 se analizan los resultados y se realiza la discusión de los mismos. Finalmente en el apartado 4 se establecen las conclusiones.

2. Materiales y métodos

Para realizar el estudio de estabilidad y capacidad del proceso se seleccionó como variable el rendimiento de la familia pata-muslo. Este valor se define como el cociente entre el producto terminado (kilogramos de la familia pata-muslo obtenido) y kg de pollo vivo ingresado. Los kilogramos de pollo vivo ingresado se calculan como el producto de la cantidad de unidades ingresadas por día y el peso medio de los pollos.

Para el cálculo del rendimiento la industria avícola de la región, aportó los datos diarios recopilados de los kilogramos de pollo vivo y kilogramos obtenidos de pata muslo en el período comprendido entre agosto de 2016 y julio de 2017.

Se realizó un análisis estadístico descriptivo a los efectos de individualizar las características estadísticas más relevantes como valor promedio, rango y valores máximos y mínimos. Se construyeron los gráficos de control para la variable rendimiento, se analizó el comportamiento estadístico de la misma y finalmente se calculó la capacidad del proceso.

3. Resultados y Discusión

Se realiza un análisis descriptivo de la variable estudiada a los efectos de visualizar el comportamiento estadístico de la misma. Para el cálculo de la capacidad del proceso se analiza la distribución probabilística de la cual provienen los datos y se calculan los índices de capacidad y de inestabilidad.

3.1. Análisis descriptivo variable estudio

Los gráficos de caja y bigote permiten visualizar los percentiles 25 (primer cuartil), 50 (mediana) y 75

(tercer cuartil), mientras que los valores externos a los bigotes se consideran valores atípicos. En la Figura 1 se muestra la distribución de los rendimientos de la familia pata-muslo. La mediana asume un valor de 96% y la media 95%. Los valores inferiores al 79% fueron eliminados con posterioridad a la consulta realizada a la industria, ya que éstos fueron causales de decomiso. Un gráfico de rendimientos semanales a través del año analizado, permitió observar una diferencia en el comportamiento correspondiente al primer semestre (agosto 2016-enero 2017) y segundo semestre (febrero 2017-julio 2017) (datos no mostrados).

En la Figura 2 se muestra el rendimiento semestral. En el segundo semestre se observa que hay un menor rendimiento, una mayor dispersión en los valores y se pueden observar valores inferiores al 86%. En tanto que para el período restante, los rendimientos poseen menor dispersión, con valores mínimos que superan el 90%.

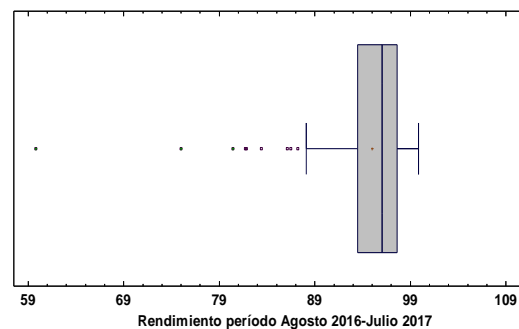


Figura 1. Diagrama caja bigote período agosto 2016-julio 2017.

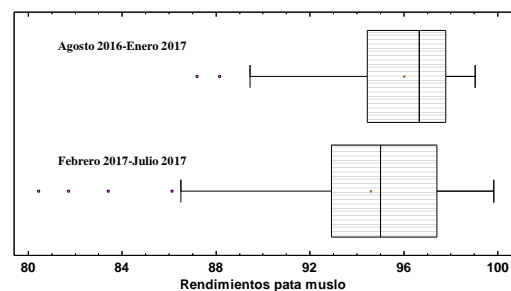


Figura 2. Diagrama caja bigote semestral.

3.2. Estudio de estabilidad del proceso

El rendimiento pata-muslo es una característica de calidad de naturaleza continua. Se realizaron cartas de control X-R. Una suposición fundamental en el desarrollo de las mismas es que la distribución de la variable bajo estudio sea normal (Montgomery y Runger, 1994). En la Figura 3 se muestra un histograma en el cual se agrupan los datos registrados de rendimiento pata muslo anual y donde puede observarse que presentan asimetría negativa. Superpuesto a este gráfico y con línea sólida se ha

dibujado la curva de densidad normal la cual ayuda a evidenciar que los datos no siguen una distribución normal.

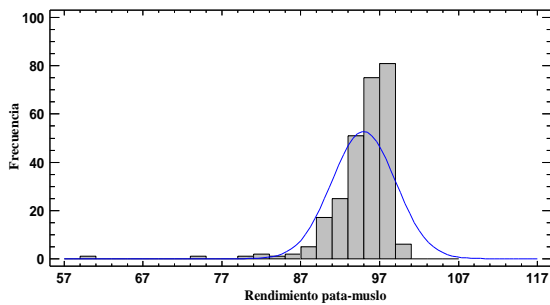


Figura 3. Histograma y curva de densidad normal.

Otra forma de comprobar el ajuste a la normalidad es mediante gráficos de distribución de probabilidad normalidad (Figura 4). La línea recta representa el modelo teórico normal. En el presente trabajo los datos se apartan de la normalidad. El análisis de normalidad fue complementado con las pruebas de Chi cuadrado y Shapiro Wilk (Tabla 1).

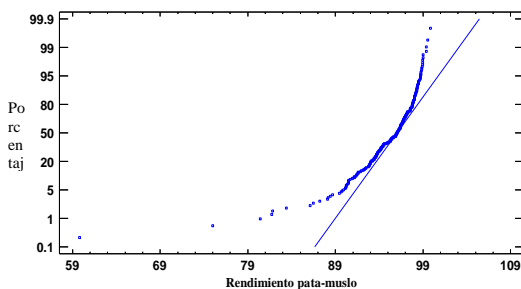


Figura 4. Distribución de probabilidad normal.

Tabla 1. Pruebas de Normalidad

Prueba	Valor-P
Chi-Cuadrado de Pearson	1.11E-16
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.0

Debido a que el valor-P más pequeño de las pruebas realizadas es menor a 0.05, se puede rechazar la idea de que la variable rendimiento pata-muslo provenga de una distribución normal con 95% de confianza.

Varios autores han estudiado el efecto de las desviaciones respecto de la normalidad en los diagramas de control. Las constantes de los límites de control según la teoría normal común, son muy sólidas respecto a la suposición de normalidad y pueden utilizarse a menos que la población sea extremadamente anormal (Burr, 1967). En la mayoría de los casos es suficiente utilizar muestras de subgrupos de tamaño 4 ó 5 para asegurar una solidez razonable con respecto a la suposición normal.

Por lo antes expuesto, las cartas X-R se construyeron con subgrupos de tamaño 5 y el cálculo de los límites de control se realizó bajo el supuesto de normalidad. Este supuesto fue verificado.

Para la construcción de la carta X-R se realizó un estudio inicial a los efectos de observar el comportamiento de los datos en un tiempo representativo y analizar los cambios cotidianos que puedan presentarse durante el proceso. Para la elaboración de las cartas se tomaron 54 muestras de tamaño 5. En la Figura 5 un punto del gráfico indica el rango correspondiente a cada una de las muestras de tamaño 5. En la Figura 6 se representa el promedio del rendimiento obtenido en una semana para cada una de las muestras (datos tomados de lunes a viernes). Los valores numéricos en el eje vertical corresponden a los límites de control.

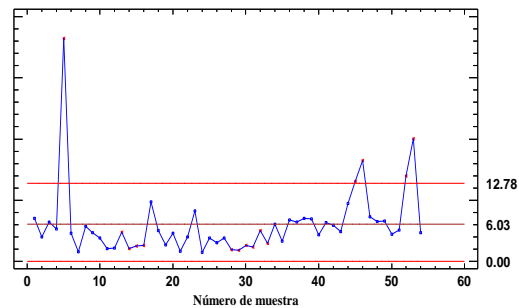


Figura 5. Carta de rangos del rendimiento % con la totalidad de las observaciones.

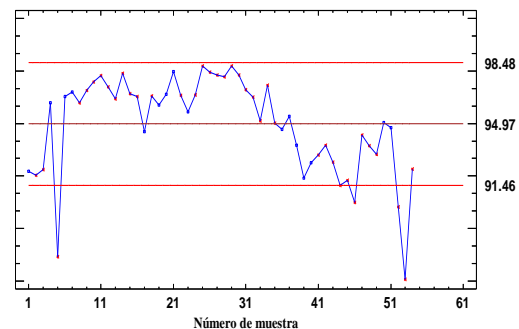


Figura 6. Carta de medias con la totalidad de las observaciones.

Para interpretar patrones en el diagrama de media, hay que determinar primero si el diagrama de rangos está bajo control. En el presente trabajo se observaron en la carta de rangos pocos puntos fuera de los límites de control y dado que estos valores influyen en los límites de control calculados se investigó e identificó la causa. Se determinó que existía una razón causal, ya que el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria, SENASA, realizó un mayor número de decomiso. Por esta razón se procedió a eliminar los valores atípicos y se recalcularon los límites de control sin la influencia de estas situaciones especiales. Las gráficas resultantes son las reportadas en las Figuras 7 y 8.

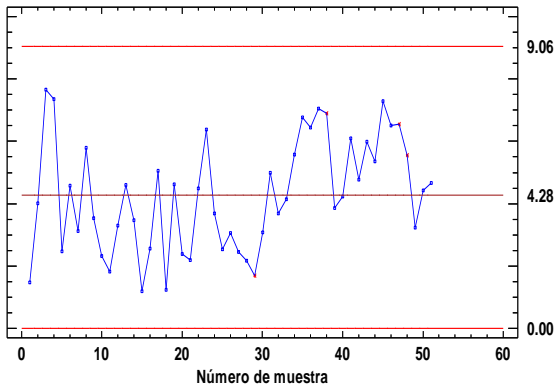


Figura 7. Carta de rangos sin observaciones especiales.

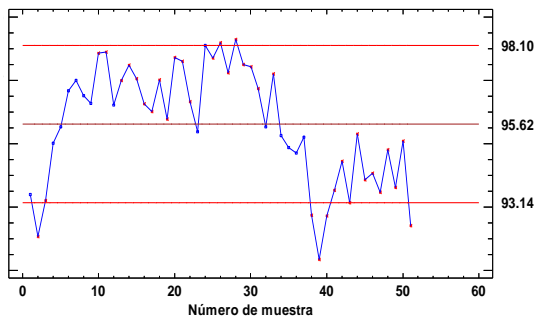


Figura 8. Carta de medias sin observaciones especiales.

Se observa en la Figura 7 que la variabilidad de las muestras está dentro de los límites de control, no obstante, en la Figura 8 se puede ver que hay un comportamiento diferente entre los valores de las muestras correspondientes al primer semestre y al segundo semestre. El análisis de la carta de medias presenta un flujo de puntos consecutivos distribuidos en forma aleatoria entre el valor promedio y el límite superior durante el primer semestre, y uno similar, pero los valores se encuentran entre el valor medio y el límite inferior en el segundo semestre. Debido a que este estudio es el primero que se realiza en esta industria, sería conveniente continuar con los registros para determinar si el proceso posee un comportamiento cíclico a lo largo del tiempo o se puede atribuir a la inestabilidad del proceso.

3.3. Interpretación de las cartas de control semestrales

Para analizar las cartas de control se tuvieron en cuenta los patrones de comportamiento generales y fueron analizadas en forma independiente para cada semestre. En la Figura 9 se observaron puntos fuera de los límites de control, particularmente por debajo del límite de control inferior, una tendencia prolongada con puntos consecutivos por encima de la línea central. Esto podría ser atribuido a cambios en la media del rendimiento promedio pata-muslo. Con relación a la carta de rangos en la Figura 10,

existe un único punto fuera del límite superior de control, por lo tanto, no hubo cambios significativos que indiquen aumentos en la variabilidad.

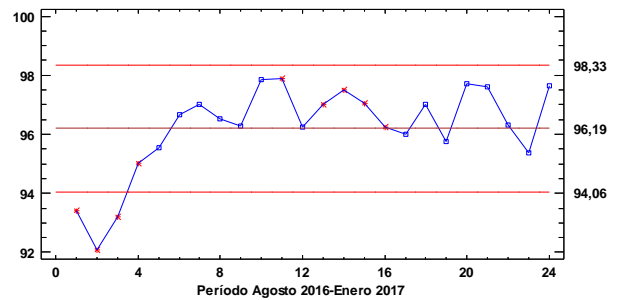


Figura 9. Carta de medias para el primer semestre.

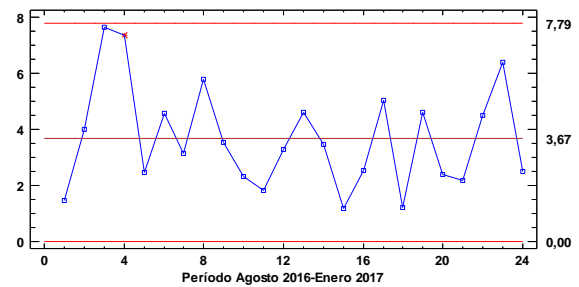


Figura 10. Carta de rango para el primer semestre.

Del análisis, de ambas cartas, se concluye que el proceso es inestable en cuanto a la tendencia central y estable en cuanto a la dispersión.

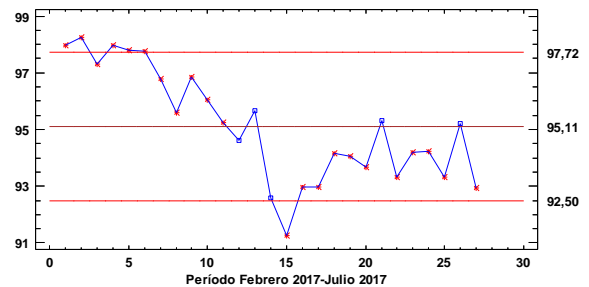


Figura 11. Carta de medias para el segundo semestre.

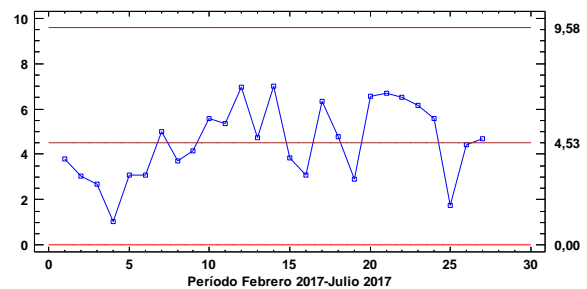


Figura 12. Carta de rangos para el segundo semestre.

En el segundo semestre el comportamiento de las medias que se aprecia en la Figura 11 refleja una tendencia de disminución en el rendimiento

promedio, la cual se acentúa a medida que se ingresa al período invernal. Respecto de los rangos calculados para el segundo período, que se visualizan en la Figura 12, se puede observar que el límite de control superior de 9.58 es mayor al obtenido en el primer semestre, lo cual indica una variabilidad incrementada para los meses de Febrero-Julio.

3.4. Análisis de capacidad del proceso

Para la determinación de la capacidad del proceso, debido a la falta de normalidad de la variable analizada, se redefinió el ancho del proceso en términos de los percentiles de la distribución que mejor ajustó los datos, como la diferencia entre los percentiles 99.865 y 0.135. Además se sustituyó la media por la mediana (percentil 50), en las fórmulas de índices de capacidad (Montalván, 2014).

A continuación se muestran los diferentes ajustes realizados a la variable rendimiento, con el software estadístico para cada semestre analizado.

Las especificaciones o tolerancias superior e inferior para la variable rendimiento de la familia pata muslo fueron 100 y 92 %, considerando un valor nominal requerido por la industria del 96 % para el período agosto 2016 a enero 2017. Para el período febrero 2017 a julio 2017 el valor nominal requerido por la industria es del 95%. La producción de la familia pata muslo disminuye dado que una gran cantidad de pollos son decomisados por el SENASA por tener presentes enfermedades propias generadas durante la incubación en dicho período del año. Las especificaciones superior e inferior para la variable en este segundo semestre son del 100 y 90%.

Con la tabla de $-p$ valores se seleccionó la distribución que mejor ajustó los valores analizados. En la figura 13 se muestran las distribuciones ensayadas para la totalidad de valores muestrales. En la tabla 2 se listan los valores p para las distribuciones ensayadas. Se puede concluir que la distribución valor extremo más pequeño es la que mejor ajusta los valores de rendimiento pata muslo.

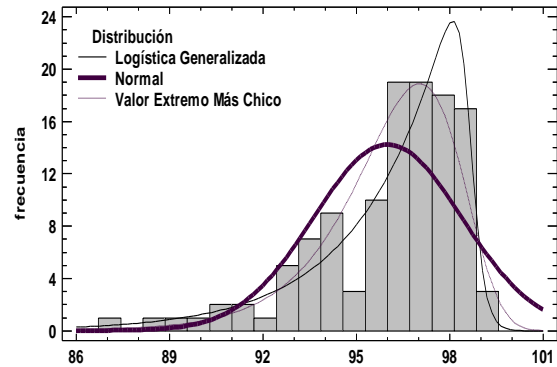


Figura 13. Pruebas de bondad de ajuste Primer semestre

Tabla 2. Pruebas de Bondad de ajuste

	Logística generalizada	Normal	Valor extremo
Valor p	0.266	0.012	0.661

El mismo procedimiento se realizó con los datos correspondientes al segundo semestre. Los resultados se muestran en la Figura 14 y Tabla 3.

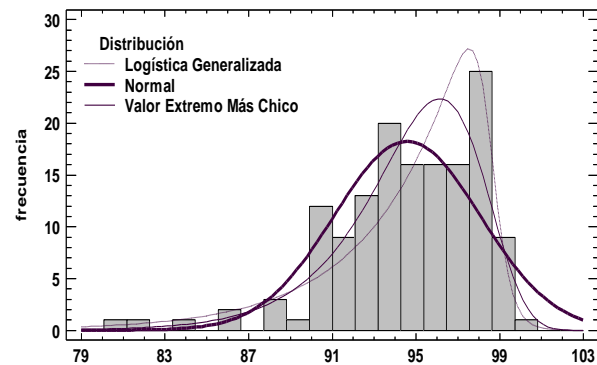


Figura 14. Pruebas de bondad de ajuste Segundo semestre

Tabla 3. Pruebas de Bondad de ajuste

	Logística generalizada	Normal	Valor extremo
Valor p	0.083	0.191	0.403

Se puede observar en la tabla anterior que el comportamiento de los datos en el segundo semestre podría ser ajustado con una distribución normal. A los efectos del análisis de capacidad se decide calcularla considerando que la distribución del valor extremo más pequeño es la que mejor ajusta por poseer el mayor valor p .

Las Figuras 15 y 16 muestran el resultado del estudio de capacidad para ambos semestres. En cada uno de ellos se observan el histograma con la curva de valores extremos más pequeños, el valor nominal, los límites de especificación (barras verticales más altas), los límites naturales del proceso (barras verticales bajas) y los diferentes índices de capacidad a corto y largo plazo.

Para el primer semestre el índice de capacidad potencial se aproximó a 1, indicando un proceso satisfactorio pero que requiere un control estricto. Los otros índices pusieron en evidencia el descentrado del proceso. La mediana del proceso está alejada del centro de las especificaciones.

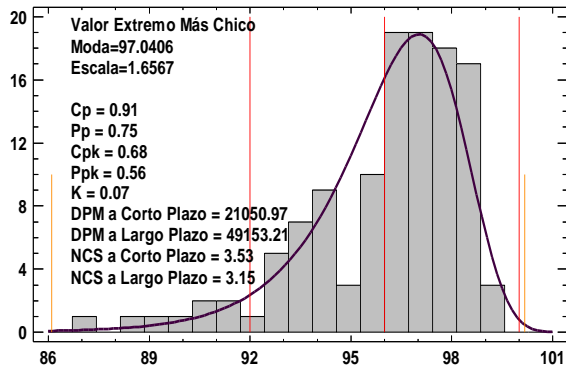


Figura 15. Estudio de capacidad primer semestre

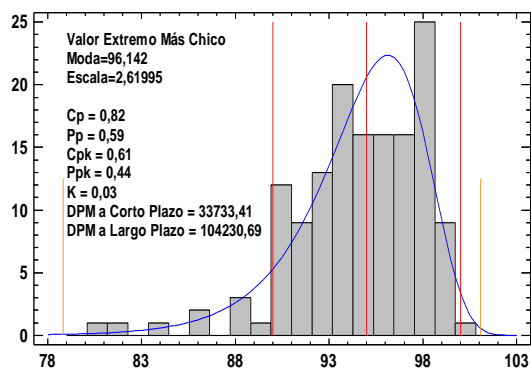


Figura 16. Estudio de capacidad segundo semestre

Para el segundo semestre el índice de capacidad potencial es menor a uno y menor al índice de capacidad potencial del primer semestre. Los otros índices pusieron en evidencia el descentrado del proceso. La mediana del proceso está alejada del centro de las especificaciones. En ambos semestres una primera recomendación sería optimizar el centrado del proceso para alcanzar el valor potencial de la capacidad.

3.5. Estado del proceso

A partir de los estudios anteriores se obtuvo el estado del proceso en cuanto a estabilidad y capacidad, con lo cual será posible adoptar la estrategia de mejora más adecuada para el mismo. En ambos semestres, el proceso es tipo C, estable en cuanto a la variabilidad pero no satisfactorio en cuanto a la capacidad. Se sugiere continuar registrando datos del proceso en cartas de control por ser un sistema de monitoreo que permite detectar

cambios en forma rápida y analizar el comportamiento de la variable para separar en forma adecuada las causas comunes de las especiales.

4. Conclusiones

Las empresas deben buscar constantemente distintos métodos para mejorar la calidad de sus procesos y productos a los efectos de aumentar el nivel de satisfacción de sus clientes e ingresos. Una adecuada implementación de monitoreo del proceso mediante cartas de control genera reducción de costos de producción y detección temprana de anomalías en el proceso.

De acuerdo a los datos disponibles para un año completo, se ha podido observar el comportamiento de la variable rendimiento de la familia pata muslo es diferente en el período Agosto 2016-Enero 2017 respecto de Febrero-Julio 2017. Si bien este ha sido un estudio preliminar, se corrobora la hipótesis del ingeniero de planta de que una causa atribuible es la gran cantidad de pollos decomisados por el SENASA por tener presentes enfermedades propias generadas durante la incubación en dicho período del año. Esto sugiere, entre otras cosas, revisar las condiciones de ventilación de los galpones donde se incuban las aves.

El estado del proceso corresponde al tipo C, es decir estable en cuanto a la variabilidad, pero no capaz.

Se sugiere además investigar las causas de la baja capacidad mediante un proyecto de mejora. Una vez aplicadas las mejoras, analizar nuevamente el estado del proceso tendiendo a lograr un proceso tipo A.

5. Referencias

- Montgomery, D.C. (2009). *Introduction to Statistical Quality Control*, 6ª ed., 13. John Wiley & Son
- Gutiérrez Pulido, H. (2010), *Calidad Total y Productividad*, 3º ed., Mc Graw Hill
- Montgomery, D; Runger, G. (1994), *Applied Statistical and probability for engineers*, J. Wiley
- Burr, I.J.(1967). *The effect of non normality on constants for X and R chart*, Industrial Quality Control, Vol.23.
- Montalván, E. y otros (2014), *Metodología para la estimación de índices de capacidad en procesos para datos no normales*, Revista Científica Técnica 24 (1), pp 44-52

53TCA. Composición química y comportamiento térmico y microestructural de la grasa de cupuassu y sus fracciones.

Chemical composition and microstructural and thermal behaviors of cupuassu fat and its fractions.

Ana Carolina Rodríguez Negrette¹, María Lidia Herrera¹

1. Instituto de Tecnología en Polímeros y Nanotecnología, Universidad de Buenos Aires, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Facultad de Ingeniería Las Heras 2214, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, CABA, Argentina. E-mail: mlidiaherrera@gmail.com

Resumen

La composición química y los comportamientos térmico y microestructural de la grasa de cupuassu y sus fracciones (oleína y estearina) obtenidas por cristalización a diferentes temperaturas, 24°C, 26°C y 29°C, se estudiaron por HPLC, GLC capilar, DSC y PLM. La grasa de cupuassu presentó un porcentaje alto de ácido oleico (43,7%) y esteárico (30,1%), y una cantidad menor de araquidónico (10,2%), palmítico (6,7%), linoleico (6,0%) y behénico (1,8%). Las muestras de estearina (E-29, E-26 y E-24) presentaron un contenido mayor en ácidos grasos saturados y las muestras de oleínas (O-29, O-26, y O-24) en ácidos grasos insaturados comparados con la grasa de cupuassu sin fraccionar. Con respecto a los triglicéridos se observó que POP, POS, SOS y SOA aumentaron en las fracciones de estearina, y PLO, OPO, OOS, SOL, OOA, LOO, OOO y OLL en las muestras de oleína. Los resultados del comportamiento térmico de las muestras indican que todas las fracciones presentaron un perfil térmico muy similar al obtenido en la muestra sin fraccionar, a excepción de la estearina obtenida a 29°C que además presentó la microestructura de la forma β_2 más fácilmente. La estearina obtenida a 29°C mostró un comportamiento adecuado para la producción de chocolates.

Palabras Clave: grasa de cupuassu, composición química, polimorfismo, propiedades térmicas.

Abstract

The chemical composition and the thermal and microstructural behavior of cupuassu fat and its fractions (olein and stearin) obtained by crystallization at different temperatures, 24°C, 26°C and 29°C, were studied by HPLC, capillary GLC, DSC and PLM. Cupuassu fat presented a high percentage of oleic acid (43.7%) and stearic acid (30.1%), and a lower amount of arachidonic (10.2%), palmitic (6.7%), linoleic (6.0%) and behenic (1.8%). Stearin samples (E-29, E-26 and E-24) had a higher content of saturated fatty acids and samples of oleins (O-29, O-26, and O-24) in unsaturated fatty acids compared to cupuassu fat unfractionated. With respect to triglycerides, it was observed that POP, POS, SOS and SOA increased in the stearin fractions, and PLO, OPO, OOS, SOL, OOA, LOO, OOO and OLL in the olein samples. The results of the thermal behavior of the samples indicate that all the fractions presented a thermal profile very similar to that obtained in the unfractionated sample, with the exception of the stearin obtained at 29°C, which also presented the microstructure of the β_2 form more easily. The stearin obtained at 29 °C showed an adequate behavior for the production of chocolates.

Keywords: Cupuassu fat, chemical composition, polymorphism, thermal properties.

1. Introducción

El cupuassu (*Theobroma grandiflorum* Schumann) es un fruto nativo de la región amazónica, relacionado botánicamente con el cacao (*Theobroma cacao* L.). Las semillas frescas contienen alrededor del 84% de humedad y el contenido de grasa es aproximadamente del 60% del peso seco. Las semillas pueden usarse para la producción de un

producto similar al chocolate llamado “Copulate”, mientras que la grasa de cupuassu se ha utilizado como sustituto de la manteca de cacao en los alimentos y como ingrediente cosmético (Gilabert-Escrivá *et al.*, 2002; Lannes *et al.*, 2003; Medeiros *et al.*, 2006).

El fraccionamiento de grasas es un proceso de modificación termomecánico, donde los

triglicéridos, componentes del aceite, son separados generalmente como una mezcla de cristalización parcial, en una fase líquida (oleína) y otra sólida (estearina) (Thomas III, 1985). Se han desarrollado diferentes métodos para el fraccionamiento, con el objetivo de modificar su textura y punto de fusión. Esta técnica permite aislar las diversas clases de triglicéridos sin cambiar la distribución de la posición de los ácidos grasos (Willis *et al.*, 1998).

Cuando se calienta una grasa, puede exhibir múltiples fases de fusión y cada paso de recristalización representa la transición de una forma polimórfica menos estable a una más estable (Zeitoun *et al.*, 1993). Los triacilglicerolos presentes en la grasa muestran un comportamiento polimórfico complejo, fuertemente influenciado por el calor y la transferencia de masa durante la cristalización. Dependiendo de la velocidad de enfriamiento y el nivel de agitación, los triacilglicerolos aparecen en diversas redes cristalinas. Las formas más comunes son la α , β' y β . Cada forma polimórfica tiene un único punto de fusión y propiedades estructurales cristalinas que las definen (Piska *et al.*, 2005; Martínez *et al.*, 2007). En un trabajo previo Silva *et al.* (2009) empleando rayos X de luz sincrotrón describieron el polimorfismo de la grasa de cupuassu y cuantificaron los dispersogramas de cinco formas polimórficas: γ , α , β' , β_2 y β_1 . Sin embargo, no describieron la morfología de esas formas cristalinas. El objetivo de este trabajo fue determinar la composición química, describir la microestructura y analizar el comportamiento térmico de la grasa de cupuassu y sus fracciones (oleína y estearina) obtenidas por cristalización a diferentes temperaturas (24°C, 26°C y 29°C).

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Para el desarrollo de este trabajo se utilizó una materia grasa de origen comercial proveniente del territorio Amazónico de Brasil.

2.2 Métodos

2.2.1 Fraccionamiento

Para el fraccionamiento en seco de la grasa de cupuassu se utilizaron tres temperaturas de cristalización: 24°C, 26°C y 29°C. Se utilizó un cristizador de vidrio de doble pared con una capacidad para 100 ml de muestra por el que recirculaba agua proveniente de un baño termostático (Julabo, modelo F32, Alemania). El mismo posee un sistema de control de temperatura con una sensibilidad de 0.1°C. El cristizador se dispuso sobre un agitador (marca Thermolyne) con control de velocidad de agitación. De la muestra

inicial se obtuvieron dos fases, una sólida (estearina) y una líquida (oleína), donde los sólidos fueron separados por filtración utilizando una bomba de vacío (DVI 100) y almacenados a temperatura de 4°C al igual que la fase líquida (Figura 1). Posteriormente la oleína obtenida a 29°C fue sometida a un nuevo fraccionamiento a una temperatura de cristalización de 26°C, obteniéndose nuevamente las dos fases estearina y oleína. Se realizó el último fraccionamiento con la oleína resultante de la cristalización a 26°C. Este último fraccionamiento se hizo a 24°C.

Se seleccionó una velocidad de agitación constante de 100 rpm y el baño con control de temperatura automático se programó para que realizara distintas rampas térmicas en función del tiempo. Se inició con un calentamiento a 60°C por 30 minutos para garantizar la eliminación de la historia cristalina previa, luego se descendió la temperatura hasta alcanzar la temperatura de cristalización seleccionada (24°C, 26°C o 29°C) donde permaneció a agitación y temperatura constante durante un periodo mínimo de 6 horas.

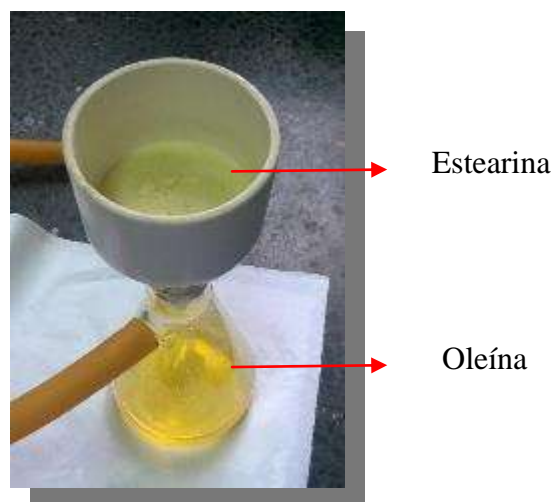


Figura1. Separación de las fracciones obtenidas por fraccionamiento en seco de la grasa de cupuassu

A partir de una muestra de grasa de cupuassu sin fraccionar (GSF) y las diferentes fracciones de estearina y oleínas obtenidas a las diferentes temperaturas de cristalización se llevaron a cabo los estudios de la composición química y comportamiento térmico. El fraccionamiento se realizó por duplicado.

2.2.2. Composición Química

La composición en Triglicéridos (TAG) fue determinada por el método oficial de la AOCS (Ce

5b- 89 y Ce 5c-93). Se utilizó un cromatógrafo HPLC Waters e2695 equipado con columna Lichrosphere 100 RP-18, refractómetro diferencial como detector (Waters 2114) e inyector automático. Para la determinación de los ácidos grasos se llevó a cabo por los métodos Ce 2-66 y Ce 1e-91. Las separaciones por cromatografía gaseosa se realizaron en un cromatógrafo Agilent 7820A, con columna capilar Supelco SP 2380, inyector Split y detector FID. Se preparó una réplica de cada muestra, y las inyecciones cromatográficas se realizaron por duplicado.

i. Tratamiento Térmico

El comportamiento térmico de todas las muestras se siguió por calorimetría diferencial de barrido (DSC). El equipo empleado fue un DSC marca SHIMADZU modelo DSC-60 con un software de análisis térmico TA 60 Versión 2.20 SHIMADZU. Las muestras se colocaron en cápsulas de aluminio de alta pureza selladas herméticamente y se utilizó una cápsula vacía como referencia. Se empleó una corriente continua de nitrógeno gaseoso de 30 ml/minuto para mantener la celda de medida libre de humedad. Para los tratamientos térmicos se empleó N₂ líquido. Se determinaron las temperaturas del pico endotérmico (tomadas como temperaturas de fusión (T_f) y las entalpías de fusión (ΔH_f). Los tratamientos térmicos seleccionados son los mismos empleados para determinar el polimorfismo por rayos X (Silva *et al.*, 2009). Se detallan a continuación:

Ciclo 1: Calentamiento desde 25°C hasta 80°C a una velocidad de calentamiento de 5°C/minuto. La muestra se mantuvo a 80°C durante 2 minutos para garantizar la eliminación de la historia cristalina previa. Pasado el tiempo se llevó a -40°C a una velocidad de enfriamiento de -20°C/minuto, ahí se mantuvo por 10 minutos isotérmicamente. Una vez finalizado los 10 minutos, se llevó la muestra hasta 80°C a una velocidad de calentamiento de 2°C/minuto con la finalidad de determinar el comportamiento de fusión y evaluar T_f y ΔH_f.

Ciclo 2: Calentamiento desde 25°C hasta 80°C a 5°C/minuto. La muestra se mantuvo a 80°C durante 2 minutos. Pasado el tiempo se llevó a -10°C a -20°C/minuto, ahí se mantuvo por 15 minutos isotérmicamente, una vez finalizado los 15 minutos se llevó la muestra hasta 80°C a 2°C/minuto. Se registraron los valores T_f y ΔH_f.

Ciclo 3: Calentamiento desde 25°C hasta 80°C a 10°C/minuto. La muestra se mantuvo a 80°C durante 2 minutos. Pasado el tiempo se llevó a -18°C a -2°C/minuto, ahí se mantuvo por 35 minutos isotérmicamente, una vez finalizado los 35 minutos se llevó la muestra hasta 80°C a una velocidad de

calentamiento de 2°C/minuto. Se determinaron los valores T_f y ΔH_f.

Ciclo 4: Calentamiento desde 25°C hasta 80°C a 10°C/minuto. Pasado el tiempo se llevó a -17°C a -5°C/minuto, ahí se mantuvo por 90 minutos isotérmicamente, una vez finalizado este tiempo se llevó la muestra hasta 23°C a 0.5°C/minuto, se mantuvo por 35 minutos isotérmicamente. Luego se llevó la muestra de 23°C a 18°C a velocidad de -5°C/minuto. Se mantiene la temperatura de 18°C por 5 minutos, para finalizar se lleva la muestra hasta 80°C a 2°C/minuto. Se determinaron los valores T_f y ΔH_f.

ii. Microestructura de las formas polimórficas

Para caracterizar el comportamiento cristalino mediante la descripción de la microestructura en función del tiempo para las muestras de GSF y sus fracciones se empleó un microscopio de luz polarizada Axio Scope A1 (Carl Zeiss, Jena, Germany) equipado con una cámara de video AxioCam 105 color y una plataforma dotada de un Peltier capaz de controlar la temperatura entre 5-120°C con una precisión de 0,1°C.

En un portaobjetos de vidrio se colocaron 15 μl de muestra previamente fundida y homogenizada. Posteriormente la muestra fue cubierta por un cubreobjetos y llevada a la placa de temperatura del microscopio donde se aplicó el programa térmico mixto (ciclo 4) descrito en el ítem 2.2.3. Se tomaron registros de imágenes en intervalos de tiempo durante el desarrollo de todo el ensayo.

2.3. Análisis Estadístico

Los análisis estadísticos se basaron en el Análisis de Varianza (ANOVA) y la Prueba de Fisher para determinar las diferencias significativas de los promedios a un nivel de probabilidad del 5% (p < 0.05) usando InfoStat (Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina) versión 2008.

3. Resultados y Discusión

3.1 Fraccionamiento

En la Tabla 1 se muestran los resultados del rendimiento de las muestras de oleína y estearina obtenidos tras el fraccionamiento en seco de la grasa de cupuassu a tres temperaturas diferentes: 24°C, 26°C y 29°C. La fracción estearina cristalizada a 29°C fue la que presentó menor rendimiento. Si bien los triglicéridos que son sólidos a esa temperatura representan el 50% sólo una pequeña fracción de la muestra original logra cristalizar a esa temperatura. El proceso de cristalización requiere un sobre-

enfriamiento similar a la energía de activación en una reacción química. A 29°C, la fuerza impulsora térmica, es decir, la diferencia entre la temperatura de fusión y la temperatura de cristalización, no es suficiente para lograr un mayor rendimiento.

Tabla 1. Rendimiento del fraccionamiento de la grasa de cupuassu a diferentes temperaturas de cristalización.

Temperatura (°C)	Estearina (%)	Oleína (%)
29	9,2	90,8
26	23,3	76,6
24	36,5	63,5

A medida que disminuye la temperatura de cristalización se observa un comportamiento creciente en el porcentaje de estearina obtenida en el fraccionamiento. A temperaturas más bajas los ácidos grasos de alto punto de fusión cristalizan más rápido ya que la fuerza impulsora del proceso es mayor.

3.2. Composición Química

3.2.1 Composición en ácidos grasos (FAME)

La Tabla 2 resume las composiciones en FAME determinados en la grasa de cupuassu original (GSF) y sus fracciones: E-29°C (estearina obtenida por cristalización a 29°C), E-26°C (estearina obtenida por cristalización a 26°C), E-24°C (estearina obtenida por cristalización a 24°C), O-29°C (oleína obtenida por cristalización a 29°C), O-26°C (oleína obtenida por cristalización a 26°C), O-24°C (oleína obtenida por cristalización a 24°C).

Tabla 2. Porcentaje de ácidos grasos presentes en mayor proporción en la grasa de cupuassu y sus fracciones

FAME	GSF	Estearina			Oleína		
		29°C	26°C	24°C	29°C	26°C	24°C
C16:0	6,7 ^{a,b}	7,1 ^c	6,9 ^{b,c}	6,7 ^{a,b}	6,9 ^{b,c}	6,8 ^{a,b}	6,6 ^a
C18:0	30,1 ^{c,d}	33,2 ^e	30,5 ^d	29,5 ^{b,c}	28,9 ^{a,b}	28,7 ^{a,b}	28,4 ^a
C18:1	43,7 ^b	41,0 ^a	43,9 ^b	44,1 ^{b,c}	44,9 ^{c,d}	45,0 ^{c,d}	45,4 ^d
C18:2	6,0 ^c	5,4 ^a	5,7 ^b	6,1 ^{c,d}	6,2 ^{c,d}	6,3 ^{d,e}	6,3 ^{d,e}
C20:0	10,3 ^{b,c}	10,5 ^c	10,0 ^{a,b}	10,2 ^{b,c}	9,9 ^{a,b}	9,9 ^{a,b}	9,6 ^a
C22:0	1,8 ^{a,b}	1,7 ^a	1,7 ^a	1,8 ^b	1,7 ^{a,b}	1,8 ^{a,b}	1,8 ^{a,b}

^{a,b,c} El análisis estadístico se realizó por comparación de muestras (filas) para cada ácidos grasos, Medidas con diferentes superíndices dentro de una misma fila difieren significativamente (test de Fisher con un nivel de significancia de $\alpha \leq 0,05$).

Abreviaturas: FAME: Metil ésteres de los ácidos grasos; GSF: Grasa sin fraccionar; P: Ácido Palmítico (C 16:0); L: Ácido Linoleico (C18:2); O: Ácido Oleico (C18:1); S: Ácido Esteárico (C 18:0); A: Ácido Araquidónico (C20:0); B: Ácido Behémico (C22:0); St: Ácidos saturados; U: Ácidos insaturados.

Los resultados son el promedio de 4 valores.

El principal ácido graso presente en GSF fue el oleico (43,7%) seguido del esteárico (30,1%). En menor proporción se encontraron el ácido araquidónico (10,3%), palmítico (6,7) y linoleico (6,0%). El resto de ácidos grasos presentes no superan un contenido mayor a 1,8%. Estos resultados concuerdan con los determinados por otros autores (Silva y col., 2009; Luccas, 2001; Lannes *et al.*, 2004; de Oliveira y Genovese, 2013). Las muestras de estearina, obtenidas a las diferentes temperaturas de cristalización, presentaron un mayor contenido en ácidos grasos saturados que la GSF y las fracciones oleína (a excepción del ácido behémico donde no hubo diferencias significativas entre las muestras). Caso contrario para las muestras de oleína (O-29, O-26, O-24) se observó un aumento en el contenido de ácidos grasos insaturados.

3.2.2 Composición en triglicéridos (TAGs)

En la Tabla 3 se observa la composición en TAGs de la grasa de cupuassu y sus fracciones estearinas y oleínas obtenidas a diferentes temperaturas de cristalización.

Tabla 3. Contenido de TAGs presentes en la grasa de cupuassu y sus fracciones estearinas y oleínas

TAG	GSF	Estearina			Oleína		
		29°C	26°C	24°C	29°C	26°C	24°C
PLP	1,1 ^a	1,8 ^a	1,3 ^a	1,2 ^a	1,3 ^a	1,3 ^a	1,2 ^a
PLO	1,6 ^{a,b}	1,4 ^a	1,6 ^{a,b}	1,6 ^{a,b}	2,4 ^{a,b}	2,7 ^b	1,9 ^{a,b}
LOO	5,9 ^a	4,8 ^b	5,0 ^{a,b}	5,6 ^{a,b}	5,5 ^{a,b}	5,6 ^{a,b}	5,6 ^{a,b}
OOO	3,2 ^a	2,5 ^{a,b}	2,4 ^b	2,7 ^{a,b}	2,7 ^{a,b}	2,8 ^{a,b}	2,7 ^{a,b}
OPO	6,4 ^a	3,9 ^b	4,4 ^b	5,2 ^{a,b}	4,7 ^b	5,2 ^{a,b}	4,8 ^b
POP	1,5 ^a	1,5 ^a	1,1 ^{a,b}	1,3 ^{a,b}	0,8 ^{a,b}	0,9 ^{a,b}	0,7 ^b
OOS	21,7 ^{b,c,d}	18,8 ^a	19,5 ^{a,b}	20,4 ^{a,b,c}	22,3 ^{c,d}	23,6 ^d	21,9 ^{c,d}
SOL	3,4 ^a	2,5 ^b	2,4 ^b	2,7 ^b	2,6 ^b	3,4 ^a	2,6 ^b
POS	9,9 ^a	9,4 ^a	9,1 ^a	9,3 ^a	8,6 ^{a,b}	8,5 ^{a,b}	7,5 ^b
OOA	7,2 ^a	7,1 ^a	8,0 ^{a,b}	8,3 ^{a,b}	8,6 ^{a,b}	9,8 ^b	9,1 ^{a,b}
OLL	0,5 ^a	0,8 ^{a,b}	0,8 ^{a,b}	0,6 ^a	1,1 ^{a,b,c}	1,7 ^c	1,2 ^{b,c}
SOS	18,9 ^a	23,7 ^d	25,7 ^e	20,2 ^{a,b}	22,0 ^c	20,8 ^{b,c}	20,0 ^{a,b}
SOA	11,6 ^{b,c,d}	12,7 ^d	12,4 ^{c,d}	11,4 ^{b,c,d}	10,8 ^{a,b,c}	9,5 ^a	9,9 ^{a,b}
SOB	1,3 ^{a,b}	2,4 ^b	2,3 ^b	1,5 ^{a,b}	1,1 ^a	0,8 ^a	0,7 ^a
Otros	6,0	6,8	3,5	7,8	5,5	3,6	10,2
SUS _t	44,2	51,4	52,0	44,9	44,6	41,8	40,0
SUU	40,2	33,7	36,0	38,3	40,5	44,6	40,4
UUU	9,6	8,1	8,3	9,0	9,3	10,0	9,5

^{a,b,c} El análisis estadístico se realizó por comparación de muestras (filas) para cada triglicéridos. Medidas con diferentes superíndices dentro de una misma fila difieren significativamente (test de Fisher con un nivel de significancia de $\alpha \leq 0,05$).

Abreviaturas: TAGs: triglicéridos; GSF: Grasa sin fraccionar; P: Ácido Palmítico (C 16:0); L: Ácido Linoleico (C18:2); O: Ácido Oleico (C18:1); S: Ácido Esteárico (C 18:0); A: Ácido Araquidónico (C20:0); B: Ácido Behémico (C22:0); St: Ácidos saturados; U: Ácidos insaturados.

Se puede observar que el TAGs en mayor porcentaje en la GSF fue el OOS en una cantidad de 21.6%, seguido de un 18.9% de SOS. Los TAGs SOA, POS, OOA, OPO, LOO y OOO se hallaron en menor cantidad, en proporciones de 11,58%, 9,91%, 7,24%, 6,41%, 5,87% y 3,24%, respectivamente. El resto de los TAGs presentes no superaban un contenido mayor a 2%. De manera general, en el análisis composicional de GSF y sus fracciones, se puede decir que los TAGs de tipo StUSt (saturado-insaturado-saturado, como por ejemplo POP, POS, SOS y SOA) aumentaron en las muestras de estearina; mientras que, los de tipos StUU (PLO, OPO, OOS, SOL y OOA) y UUU (LOO, OOO y OLL) aumentaron en las muestras de oleína.

La grasa de cupuassu original y sus fracciones no reúnen todas las condiciones para ser consideradas como equivalente de la manteca de cacao. Si bien se hallaron contenidos de ácidos grasos mono-insaturados menores al 45% (a excepción de las muestras de O-26 y O-24), el contenido de TAGs de tipo S₁US_t estuvo por debajo de 65% y la cantidad de ácidos grasos poli-insaturados fue mayor al 5% (Beckett, 1994). Sin embargo, dada su compatibilidad con la manteca de cacao podría emplearse como extendedor de la misma.

3.3. Transiciones polimórficas (DSC)

En la Figura 2 se muestra el termograma de fusión obtenido por DSC para la grasa de cupuassu. En la Figura 3 los termogramas para sus fracciones.

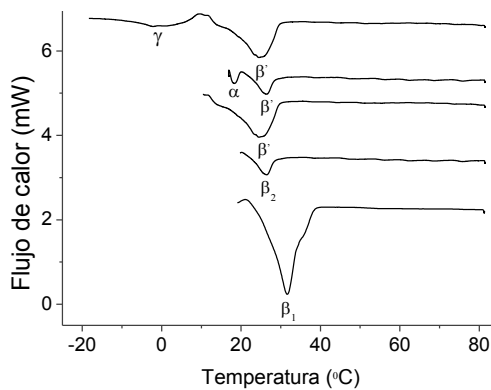
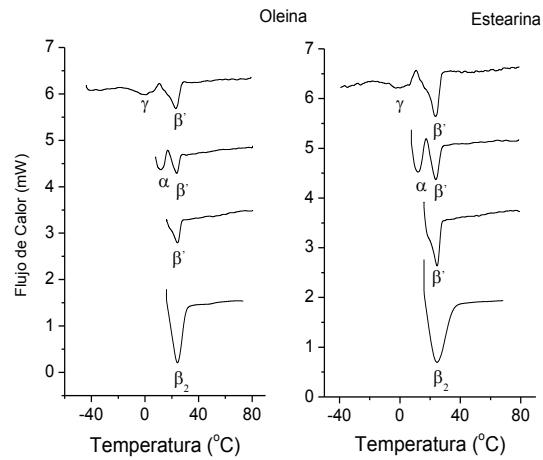


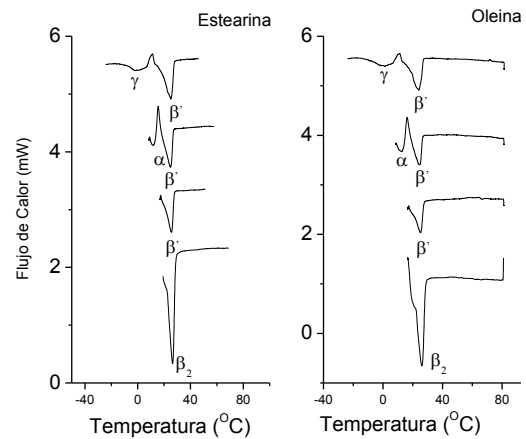
Figura 2. Termograma de fusión de la grasa de cupuassu sin fraccionar.

Los resultados del comportamiento térmico de las muestras indican que todas las fracciones oleína y estearina presentaron un perfil polimórfico muy similar al obtenido en la muestra de cupuassu sin fraccionar, a excepción de la estearina cristalizada a 29°C que presentó una transición térmica a mayor temperatura que solo estuvo presente en esta fracción. Debido a que la temperatura de este pico

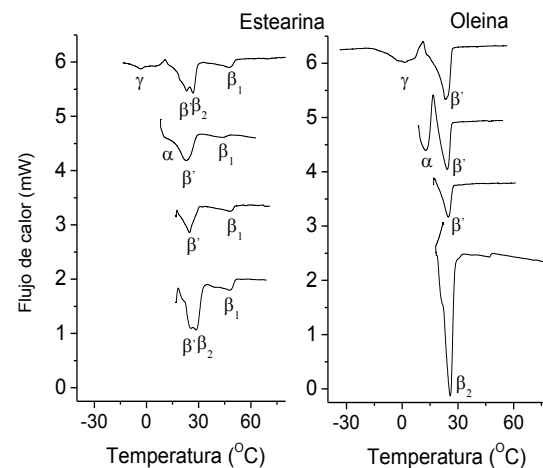
fue superior a la de las otras transiciones térmicas esta forma fue llamada β_1 .



(a)



(b)



(c)

Figura 2. Termogramas de fusión de las fracciones oleína y estearina a diferentes temperaturas de cristalización. (a) Fracciones cristalizadas a 24°C; (b) Fracciones cristalizadas a 26°C ;(c) Fracciones cristalizadas a 29°C. En las partes a-d, las curvas corresponden a los ciclos térmicos 1 a 4.

En la Tabla 4 se confirma que no se hallaron diferencias significativas entre las muestras en las temperaturas de fusión de las transiciones térmicas para la mayoría de las formas polimórficas. Solo se encontraron en el caso de la forma polimórfica α de la estearina obtenida a 29°C cuya temperatura de fusión resultó menor que la de las estearinas obtenidas a 26°C y 24°C. Estas dos últimas muestras no presentaron diferencias significativas entre sí.

Tabla 4. Temperaturas (P_f) y entalpías de fusión (ΔH_f) determinadas a partir de los termogramas de fusión de la grasa de cupuassu y sus fracciones para las diferentes temperaturas de cristalización.

Forma Polimórfica	29°C		26°C		24°C	
	P_f (°C)	ΔH_f (Jg ⁻¹)	P_f (°C)	ΔH_f (Jg ⁻¹)	P_f (°C)	ΔH_f (Jg ⁻¹)

Estearina

γ	-3,5 ^a	-4,9	-2,2 ^{a,b}	-11,6	0,1 ^b	-14,7
α	8,2 ^a	-3,7	11,5 ^b	-2,7	12,3 ^b	-26,5
β'	23,7 ^a	-5,0	24,7 ^a	-28,7	24,1 ^a	-31,8
β_2	27,1 ^a	-5,3	26,2 ^a	-30,9	25,4 ^a	-35,0
β_1	46,6	-3,7				

Oleína

γ	-0,5 ^a	-40,3	-0,8 ^a	-16,3	0,9 ^a	-29,1
α	12,4 ^a	-27,5	12,4 ^a	-18,8	12,5 ^a	-27,3
β'	24,5 ^a	-51,1	24,4 ^a	-29,6	23,7 ^a	-26,6
β_2	26,6 ^a	43,1	25,4 ^a	-26,5	24,9 ^a	-34,2

^{a,b,c} Medidas con diferentes superíndices dentro de un misma columna difieren significativamente (test de Fisher con un nivel de significancia de $\alpha \leq 0,05$).

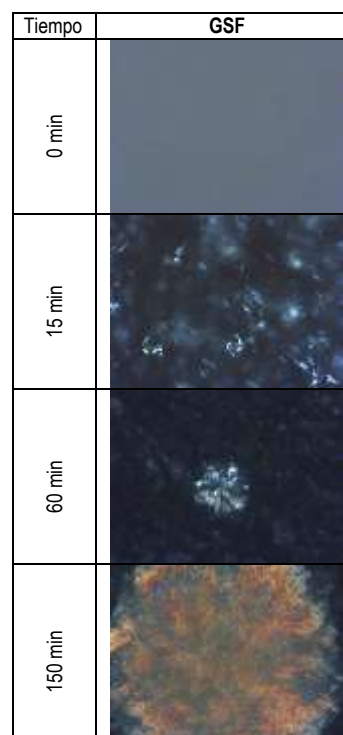
3.4. Microestructura de las formas polimórficas

En la Figura 3 podemos observar los cambios en las morfologías cristalinas de las fracciones con respecto a la muestra original (GSF). Debido a las diferencias en la composición química el comportamiento de cristalización fue significativamente diferente entre las muestras registrándose distintos cristales con diversas morfologías. De acuerdo a Silva et al. (2009) los mismos corresponden a distintas formas polimórficas.

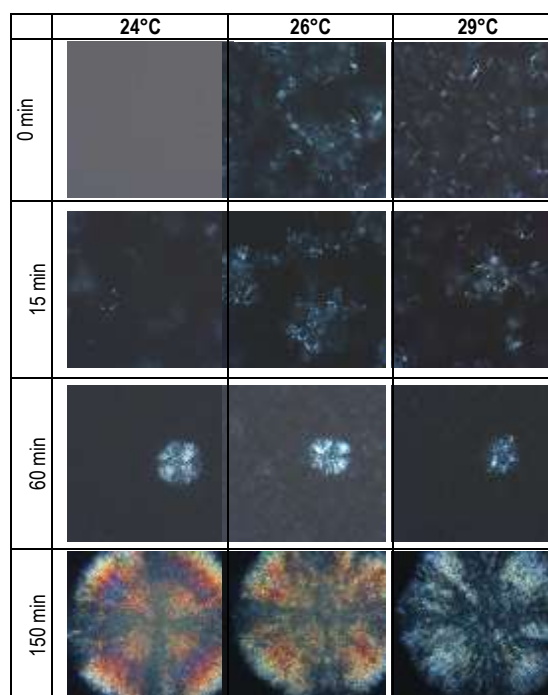
Al tiempo 0, una vez alcanzada la temperatura de cristalización en la GSF (a) no se observó la presencia de ninguna forma cristalina, pero al cabo de los primeros 5 minutos se apreció la formación de

la forma α que se caracteriza por tener pequeños cristales en forma de aguja.

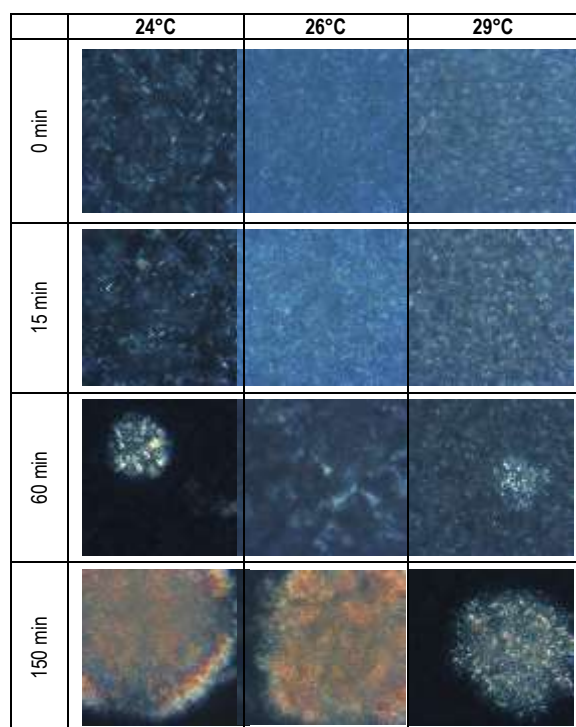
Pasado los 60 minutos se observa que la forma α ha desaparecido y se ha empezado a formar otro cristal más estable, que corresponde a la forma β'_1 . Esta forma cristalina se fue intensificando a medida que aumentaba el tiempo de cristalización.



(a)



(b)



(c)

Figura 3. Imágenes de microscopía de luz polarizada (PLM) tomadas a diferentes tiempos para a) GSF; b) Fracciones de oleína y c) Fracciones de estearina obtenidas por cristalización a 24°C, 26°C y 29°C.

Con respecto a las fracciones (b, c) la forma α también fue la primera que cristalizó en todas las muestras de oleína y estearina. Pero, se notó que en las fracciones de estearina, especialmente en las muestras cristalizadas a 26 y 29°C, también cristalizaba la forma β'_2 observándose como cristales pequeños menos brillantes. Este comportamiento no se evidenció en la muestra de GSF y las oleínas. Al minuto 60 al igual que en GSF se observa la aparición de otra forma cristalina más estable y las formas α y β'_2 van descendiendo hasta desaparecer. En las fracciones de oleína se forma como cristal más estable la forma polimórfica β^1_1 , mientras que en las estearinas se observa la formación de β_2 . Esta última forma cristalina también aparece en la GSF pero en menor cantidad. No se evidenció la forma cristalina β_1 . Esto puede deberse a que el tiempo de ensayo no fue suficiente para obtenerla.

4. Conclusiones

Este estudio nos proporcionó pruebas para establecer relaciones entre las composiciones químicas y el comportamiento térmico y polimórfico que presentan la grasa de cupuassu y sus fracciones.

El fraccionamiento de la grasa de cupuassu nos permitió obtener una fracción estearina a 29°C con una composición química enriquecida en ácidos grasos saturados y triglicéridos de estos ácidos grasos, SOS, SOA y SOB. Esta fracción cristalizó en la forma β_1 en los tiempos que se emplearon en el DSC. Es esperable que la fracción estearina a 29°C tenga una mejor funcionalidad en productos en los que se requiere una materia grasa con mayor punto de fusión.

5. Bibliografía

AOCS Official Method Ce 5b-89. *Triglycerides in Vegetable Oils by HPLC*. Revised 2017. Official Methods and Recommended Practices of the AOCS. AOCS Press, United State of America.

AOCS Official Method Ce 5c-93. *Individual Triglycerides in Oils and Fats by HPLC*. Reapproved 2017. Official Methods and Recommended Practices of the AOCS. AOCS Press, United State of America.

AOCS Official Method Ce 2-66. *Preparation of Methyl Esters of Fatty Acids*. Reapproved 2017. Official Methods and Recommended Practices of the AOCS. AOCS Press, United State of America.

AOCS Official Method Ce 1e-91. *Preparation of Methyl Esters of Long-Chain Fatty Acids*. Revised 2017. Official Methods and Recommended Practices of the AOCS. AOCS Press, United State of America

Beckett, S. (1994) *Industrial Chocolate Manufacture and Use*. Blackie Academic and Professional, Glasgow, UK

de Oliveira, T.B.; Genovese, M.I. (2013). *Chemical composition of cupuassu (Theobroma grandiflorum), cocoa (Theobroma cacao) liquors, and their effects on streptozotocin-induced diabetic rats*. Food research international 51(2), 929-935.

Gilbert-Escrivá, M.V.; Gonçalves, L.A.G.; Silva, C.R.S.; Figueira, A. (2002). *Fatty acid and triacylglycerol composition and thermal behaviour of fats from seeds of Brazilian Amazonian Theobroma species*. Journal of the Science of Food and Agriculture 82: 1425-1431.

Silva, J.C.; Plivelic, T.S.; Herrera, M.L.; Ruschinsky, N.; Kieckbusch, T.G.; Lucas, V.; Torriani, I.L. (2009). *Polymorphic phases of natural fat from Cupuassu (Theobroma grandiflorum) beans: a WAXS/SAXS/DSC study*. Crystal Growth & Design 9(12), 5155-5163.

Lannes, S.C.S.; Medeiros, M.L.; Gioielli, L.A. (2003). *Physical interactions between cupuassu and cocoa fats*. *Grasas y Aceites*, 54: 253-258.

Lannes, S.C.S.; Medeiros, M.L.; Gioielli, L.A. (2004). *Rheological properties of cupuassu and cocoa fats*. *Grasas y Aceites* 55(2), 115-121.

Luccas, V. (2001). *Fracionamento térmico e obtenção de gorduras de cupuaçu alternativas à manteiga de cacau para uso na fabricação de chocolate*. Tesis de doctorado, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Estatal de Campinas, Sau Pablo, Brasil.

Martínez, D.P.; Salas, C.A.; Alonso, M.C.; Alvarado, E.D.; Vázquez, J.F.T. (2007). *The cooling rate effect on the microstructure and rheological properties of blends of cocoa butter with vegetable oils*. *Food Research. International*. 40: 47-62.

Medeiros, M.L.; Ayrosa, A.M.I.B.; Pitombo, R.N.M.; Lannes, S.C.S. (2006). *Sorption isotherms*

of cocoa and cupuassu products. *Journal of Food Engineering*. 73: 402-406.

Piska, I.; Zárubová, M.; Louzecký, T.; Karami, H.; Filip, V. (2005). *Properties and crystallization of fat blends*. *Journal of Food Engineering*. 77: 433-438.

Thomas III, A.E. (1985). *Fractionation and winterization: Processes and products Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, Vol. 3, 4^a ed, pp 1-39. En Applewhite T.H (Ed) John Wiley & Sons New York.

Willis, W.M.; Lencki, R.W.; Marangoni, A.G. (1998). *Lipid modification strategies in the production of nutritionally functional fats and oils*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 38: 630- 674.

Zeitoun, M.A.M.; Neff, W.E.; List, G.R.; Mounts, T.L. (1993). *Physical properties of interesterified fat blends*. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 70: 467-471.