

**INVESTIGACIONES
Y AVANCES DE
ANÁLISIS FÍSICOS,
QUÍMICOS Y
SENSORIALES DE
LOS ALIMENTOS**

Investigaciones y avances en análisis físico químicos y sensoriales de los alimentos : trabajos completos del V CICYTAC 2014 / Edgardo Calandri ... [et al.] ; compilado por Romina Cabrera ... [et al.] ; coordinación general de Victoria Rosati ; editado por Alberto Edel León ; María Verónica Barone ; Hugo Alberto Dellavedova. - 1a ed compendiada. - Córdoba : Ministerio de Industria, Comercio, Minería y Desarrollo Científico Tecnológico . Secretaría de Ciencia y Tecnología, 2015. Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-987-45738-6-5

1. Ciencia y Tecnología. 2. Actualización de los Conocimientos. 3. Análisis de los Alimentos. I. Calandri, Edgardo II. Cabrera, Romina, comp. III. Rosati, Victoria , coord. IV. León, Alberto Edel , ed. V. Barone, María Verónica , ed. VI. Dellavedova, Hugo Alberto, ed.
CDD 664

Diseño: Noriega Julieta. Área de Comunicación. Secretaría de Ciencia y Tecnología de la Provincia de Córdoba.



EDITORES

María Verónica, Baroni (ISIDSA-ICYTAC, UNC-CONICET, Córdoba, Argentina)
Edgardo, Calandri (ICTA-ICYTAC, UNC-CONICET, Córdoba, Argentina).
Romina, Di Paola Naranjo. (ICYTAC – CONICET, Córdoba, Argentina).
Marcela, Martínez. (UNC Universidad Nacional de Córdoba – CONICET, Córdoba, Argentina).
Malena, Moiraghi. (ICYTAC- CONICET, Córdoba, Argentina).

PROLOGO

Los alimentos no son compuestos estáticos, sino dinámicos y consecuentemente las ciencias alimentarias deben estudiar la composición de los alimentos y los efectos del procesado en sus componentes, investigando y descubriendo las conexiones que existen entre la estructura de los diferentes compuestos y sus propiedades organolépticas, así como su capacidad de deterioro en función de su composición química.

La caracterización de los alimentos se basa en diferentes métodos de evaluación, los cuales pueden agruparse en función de los objetivos que persigan y los principios en que se fundamentan. Así, la evaluación involucra tres tipos de análisis: análisis físico- químico, análisis microbiológico y análisis sensorial. El presente libro de trabajos completos correspondiente al V Congreso Internacional en Ciencia y Tecnología de Alimentos, se enfoca en el análisis físico-químico y sensorial de alimentos.

El análisis físico-químico implica la caracterización de los alimentos desde el punto de vista físico-químico, haciéndose énfasis en la determinación de su composición química, es decir determinar que sustancias están presentes en un alimento (proteínas, grasas, vitaminas, minerales, carbohidratos, contaminantes metálicos, residuos de plaguicidas, toxinas, antioxidantes, etc.) y en qué cantidades se encuentran.

El análisis sensorial es una disciplina muy útil para conocer las propiedades organolépticas de los alimentos, así como de productos de la industria farmacéutica, cosméticos, etc, por

medio de los sentidos. La evaluación sensorial es innata en el hombre ya que desde el momento que se prueba algún producto, se hace un juicio acerca de él, si le gusta o disgusta, y describe y reconoce sus características de sabor, olor, textura etc. El análisis físico químico y sensorial de los alimentos son instrumentos eficaces para el control de calidad y aceptabilidad de un alimento, ya que para la comercialización de los alimentos se debe cumplimentar con las normas establecidas por los organismos regulatorios.

En este libro se reúnen 47 trabajos completos, los cuales esperamos sean de utilidad a los interesados en el análisis de alimentos.

Los Editores

**CONTENIDO DE POLIFENOLES Y CAPACIDAD
ANTIOXIDANTE DE MICROPARTÍCULAS
COMESTIBLES PORTADORAS DE ANTIOXIDANTES
NATURALES OBTENIDAS A PARTIR DE CIRUELAS
(PRUNUS SALICINA)**

Basanta M.F.^{1,2}, Gerschenson L.N.^{1,2}, Rojas A.M.^{1,2}

1: Departamento de Industrias; Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

2: CONICET.

fbasanta@gmail.com

Resumen: El presente trabajo tiene por objetivo el análisis del contenido de fenoles y de la capacidad antioxidante de micropartículas (MPCs) obtenidas a partir del mesocarpio y del exocarpio de ciruelas (*Prunus salicina* L.). Las MPCs obtenidas con granulometría menor a 420 µm fueron en principio caracterizadas en su composición química. Luego, se evaluó, por el método de Folin-Ciocalteu, el contenido total de compuestos fenólicos, así como el contenido de compuestos fenólicos libres, y se determinó la capacidad antioxidante mediante el método de FRAP y DPPH. El mayor contenido de fenoles totales hallado correspondió a las MPCs del mesocarpio (19,4 mg ácido gálico/g MPC), mientras que el contenido de compuestos fenólicos libres fue similar para las MPCs obtenidas del endocarpio y exocarpio (≈ 3,7 mg ácido gálico/g MPC). Por otro lado, la capacidad antioxidante de las MPCs obtenidas a partir del exocarpio de ciruelas fue mayor (335 y 218 mg AA/100 g MPC-exocarpio, por DPPH y por FRAP, respectivamente).

Este estudio demuestra que, pese al tratamiento con etanol aplicado para su obtención, las MPCs obtenidas contienen compuestos fenólicos asociados. Además, presentaron capacidad antioxidante, siendo por lo tanto promisorio su utilización para el desarrollo de ingredientes y/o aditivos funcionales a ser aplicados en la formulación de alimentos.

Palabras clave: micropartículas, antioxidantes, polifenoles, ciruelas, biopolímeros de pared celular.

Abstract: The objective of this work was to analyze the phenolic content and antioxidant capacity of the microparticles (MPCs) developed from the mesocarp and exocarp of plums (*Prunus salicina* L.). The MPCs obtained with an average diameter lower than 420 µm were chemically characterized. Afterwards, the total and free phenolic contents were determined through the Folin-Ciocalteu technique, while the antioxidant capacity of the MPCs was evaluated through the FRAP and DPPH assays. The highest content of total phenols corresponded to the mesocarp MPCs (19,4 mg gallic acid/g MPC), whereas the content of free phenolic compounds was similar for the endocarp and exocarp MPCs (≈ 3,7 mg gallic acid/g MPC). On the other hand, the antioxidant capacity of plum exocarp MPCs was higher (335 y 218 mg AA/100 g MPC-exocarpio, for DPPH and FRAP, respectively) than that showed by mesocarp MPCs.

This study demonstrates that, in spite of the ethanolic treatment applied for their development, the MPCs obtained contain associated phenolic compounds. Also, the MPCs show antioxidant capacity. Hence, its usage is promising for the development of ingredients and/or functional additives to be applied in food formulation.

Keywords: microparticles, antioxidants, phenolic, plums, cell wall biopolymers.

INTRODUCCIÓN

Los antioxidantes sintéticos se ven periódicamente sometidos a revisión por la Food and Drug Administration (FDA, Estados Unidos) en lo que a aplicaciones en alimentos y productos farmacéuticos se refiere. Ello motiva la intensa investigación que actualmente se desarrolla en pos del aislamiento y caracterización de los llamados antioxidantes naturales (AONs). Hierbas y especias son fuentes reconocidas de AONs (Miková 2001, Shi, 2001). Las frutas y vegetales, además de ser buenas fuentes de vitaminas, minerales y fibras son también importantes fuentes de compuestos potencialmente bioactivos conocidos como fitoquímicos, entre los que se encuentran los AONs (Palafox Carlos *et al.* 2011). Algunos antioxidantes naturales están concentrados en los subproductos del procesamiento de alimentos como puede ser el caso de las frutas del género *Prunus* L. (cerezas, ciruela) cuya producción es importante en el Alto Valle de Río Negro, Argentina. Tanto las cerezas como ciruelas contienen varios compuestos fenólicos y antocianinas que contribuyen a la actividad antioxidante total (Basantá 2013, Basanta *et al.* 2014). De acuerdo con Saura Calixto (1998), la fibra dietaria rica en polifenoles asociados muestra actividad antioxidante (AAO). Los compuestos fenólicos pueden atrapar intermediarios de oxígeno reactivo sin por ello promover nuevas reacciones oxidativas de radicales libres (Ainsworth y Gillespie 2007), Larrauri *et al.* (1997) encontraron capacidad antioxidante en fibra dietaria extraída de mango y una respuesta negativa en la extraída de salvado de trigo, avena, fibra de limón y de manzana.

Además, existe una tendencia creciente hacia el consumo de alimentos funcionales, los cuales necesitarían también de preservadores naturales para extender su vida útil. En general, los consumidores prefieren alimentos saludables y con menor cantidad de preservadores/aditivos. La industria alimentaria se ve así forzada a desarrollar nuevos procesos y tecnologías, así como nuevas estrategias de preservación.

El desarrollo de nuevos ingredientes multifuncionales, como las micropartículas comestibles (MPCs) portadoras de antioxidantes naturales (AONs), a partir de residuos vegetales de las cosechas y de la industrialización de frutas y hortalizas y su aplicación en diferentes productos alimenticios como preservadores naturales constituyen un importante desafío, mientras contribuye a disminuir la polución y a agregar valor a la materia prima.

El presente trabajo tiene por objetivo el análisis del contenido de fenoles y de la capacidad antioxidante de MPCs obtenidas a partir del mesocarpio (pulpa) y del exocarpio (piel) de ciruelas (*Prunus salicina*).

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se utilizaron ciruelas (*Prunus salicina*) compradas en el mercado.

Obtención de las MPCs

Una vez removido el exocarpio de los frutos se obtuvieron las MPCs separadamente del mesocarpio (pulpa) y exocarpio (piel) mediante un proceso de homogenización de cada tejido a alta cizalla en un Omni Mixer (Ultra Turrax) con etanol frío 80% v/v

(500 g de fruta en 2L de EtOH). El homogenato fue hervido por 30 min, y luego enfriado, centrifugado. El material insoluble se volvió a tratar a alta cizalla con etanol 95 % (v/v), luego fue centrifugado, secado en corriente de aire a temperatura ambiente (23°C) y liofilizado.

Mediante tamizado se seleccionaron las MPCs de granulometría menor a 420µm.

Color

El color fue medido utilizando un colorímetro Minolta CM-508d. Se expresan los valores de los parámetros de color L^* , a^* y b en la escala CIE utilizando el iluminante estándar D65 con 2° de ángulo de observación. Los datos obtenidos estuvieron dentro de las respectivas escalas: $L=0$ (negro) a $L=100\%$ (blanco) indica la luminosidad, y los rangos de color $-a$ (verde) a $+a$ (rojo) y de $-b$ (azul) a $+b$ (amarillo). Los valores estándar fueron aquellos obtenidos con el fondo blanco.

Actividad de agua (a_w)

Fue evaluada por triplicado, a 25,0 °C, mediante un equipo Decagon AquaLab (Series 3 Water activity meter, Estados Unidos). La verdadera actividad de agua (a_w°) fue extrapolada de la curva de calibración previamente realizada con soluciones saturadas de actividad de agua conocida: LiCl ($a_w^\circ=0,110$), CH_3COOK ($a_w^\circ=0,220$), MgCl_2 ($a_w^\circ=0,333$) y NaBr ($a_w^\circ=0,577$) a 25,0°C (Greenspan 1977).

Análisis químico

El contenido de lignina, celulosa, hidratos de carbono no celulosícos y ácidos urónicos en las MPCs se realizó mediante la técnica descrita por Ng et al. (1998) y la determinación de proteínas se llevó a cabo de acuerdo a la técnica de Lowry *et al.* (1951).

Determinación de compuestos fenólicos

El contenido de compuestos fenólicos totales (esterificados y no esterificados) fue determinado según Bunzel *et al.* (2000). Para ello, 0,9 g de MPCs fueron saponificados con 50 ml de NaOH 2 N y mantenidos durante 18-20 horas a temperatura ambiente, bajo vacío y al abrigo de la luz. Finalizada la hidrólisis alcalina, se agregaron 9,5 ml de HCl (pH < 2) a cada muestra. Los sobrenadantes fueron separados por centrifugación durante 15 min a 8000 × g y 6°C (Eppendorf 5804R, Alemania).

El contenido de polifenoles pasibles de hidrólisis ácida y libres (todos ellos no esterificados) fue determinado en las MPCs de acuerdo con Parr *et al.* (1997). A 0,9 g de MPC se le agregaron 50 ml de HCl 2 M y se colocó la muestra en baño de agua caliente (90 °C) durante 30 minutos (las muestras permanecen tapadas, durante la hidrólisis). Finalizada la hidrólisis ácida y una vez enfriadas las muestras, los sobrenadantes fueron separados por centrifugación durante 15 min a 8000 × g . 6°C). Todas las hidrólisis fueron realizadas por duplicado.

Los sobrenadantes obtenidos de las hidrólisis alcalina y ácida previamente descritas fueron utilizados para evaluar, respectivamente, el contenido de polifenoles totales y de libres (no-ferúlicos), según Shui y Leong (2006), utilizando la técnica de

Folin-Ciocalteu. La diferencia aritmética entre ambos corresponde al contenido de compuestos fenólicos esterificados, por ejemplo, como diferulato.

Para la reacción colorimétrica y posterior medición espectrofotométrica, se tomaron 40 µl de las muestras hidrolizadas y se agregaron 1800 µl de una mezcla de reactivo de Folin-Ciocalteu y agua desionizada (relación 1:10). Se agitó y se dejó reaccionar durante 5 minutos a temperatura ambiente. Luego se agregaron 1200 µl de una solución de NaHCO₃ 7,5 % (p/v) y se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 1 hora. Finalizada la reacción y completado el desarrollo del color, se evaluó la absorbancia a 765 nm.

Para la curva de calibración se usó como estándar una solución de 2 mg/ml de ácido gálico (Anedra, Argentina). El contenido de fenoles se informó como mg ácido gálico/g de MPC.

Determinación de la capacidad antioxidante

A los fines de poder comparar con resultados reportados en literatura, la capacidad antioxidante de las micropartículas fue determinada sobre los extractos metanólicos, los cuales se obtuvieron suspendiendo 0,1 g de MPCs en 2 ml de MeOH en frascos color caramelo tapados que se mantuvieron con agitación continua durante 30 min a 37 °C en oscuridad, y se centrifugaron durante 20 min a 5000 rpm a 6 °C.

Estos se evaluaron mediante el método DPPH (2,2-difenil -1-picrilhidrazil) según Brand Williams *et al.* (1995) para ello a 0,1 ml del extracto se le agregaron 3,9 ml de solución de DPPH 6×10^{-5} M, se agitó en vórtex y colocó en cámara a 37 °C en oscuridad durante 30 min, luego se leyó la absorbancia a 517nm. La curva de calibración fue realizada tomando alícuotas entre 10 y 100 µl

de la solución estándar de ácido ascórbico (AA) 2000 µM en metanol, llevando con MeOH a volumen final de 0,1 ml.

También se realizó mediante el método de método FRAP (TPTZ ó 2, 4, 6-tripiridil-s-triazina y FeCl₃) según Benzie y Strain (1996) y Pulido *et.al.* (2000) para ello a 60 µl del extracto se le agrego 180 µl de agua Milli Q, se agitó en vórtex y se agregó 1800 µl de reactivo de FRAP. Se colocó en cámara a 37 °C en oscuridad durante 30 min, luego se leyó la absorbancia a 595 nm. La curva de calibración fue realizada tomando alícuotas entre 10 y 60 µl de la solución estándar de ácido ascórbico (AA) 1000 µM en metanol, llevando con MeOH a volumen final de 60 µl.

En ambos casos el resultado se informó en mg AA/100 g MPC.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las MCPs obtenidas a partir del exocarpio (piel) y del mesocarpio (pulpa) de las ciruelas fueron primero caracterizadas mediante la determinación del color, la actividad de agua, el contenido de proteínas, el de hidratos de carbono no celulósicos, de ácidos urónicos, celulosa y de lignina. Los resultados se muestran en la

Tabla 1.

Las MPCs de la piel tuvieron una coloración púrpura oscuro. La actividad de agua fue baja para ambos materiales (entre 0,300 y 0,250), lo cual asegura su preservación, con estabilidad fisicoquímica y calidad microbiológica. Se observa que las MPCs, tanto de la pulpa como de la piel, están constituidas por todos los biopolímeros de la pared celular, ya que las mismas son los residuos insolubles en etanol concentrado: 12 a 18 % celulosa, 5,5 a 8,7 % lignina, 46 a 35% de carbohidratos no celulósicos (pectinas y hemicelulosas) y $\approx 11,8$ % de proteínas propias de la

pared celular, tales como las extensinas (Fry, 1986). Es destacable el contenido sensiblemente mayor de ácidos urónicos presente en las MPCs obtenidas de la pulpa de ciruelas, lo cual demuestra su mayor contenido de pectinas. Por otro lado, en las MPCs obtenidas de la piel, se destaca un contenido algo mayor de celulosa y también de lignina, esta última constituyente de la pared celular secundaria, asociada a los tejidos de sostén y vascular, sin descartar además la lignificación como respuesta al estrés tisular.

Tabla 1: Color, actividad de agua, rendimiento y composición química de las micropartículas de tamaño menor a 420 micrones, obtenidas a partir del mesocarpio (pulpa) y del exocarpio (piel) de las ciruelas.

	Micropartículas	
	Pulpa	Piel
Color		
L*	64,1 ± 0,2	47,8 ± 0,3
a*	11,7 ± 0,1	18,7 ± 0,2
b*	22,0 ± 0,1	11,2 ± 0,4
a _w ^o	0,3	0,25
Rendimiento(g MPC /100 g fruta)	2,7	3,3
Proteínas (% p/p)	12,3 ± 0,9	11,4 ± 0,2
Hidratos de carbono no celulósicos (% p/p)	46 ± 7	35 ± 4
Ácidos urónicos (% p/p)	13,4 ± 0,3	7,6 ± 0,4
Lignina (% p/p)	5,5 ± 0,6	8,7 ± 0,3
Celulosa (% p/p)	12 ± 1	18 ± 2

* Los valores representan las medidas ± desviación estándar (n=3).

Contenido de fenoles

Las ciruelas contienen varios tipos de compuestos fenólicos y antocianinas que contribuyen a la actividad antioxidante total al igual que las cerezas dulces, también del género *Prunus* (Basanta *et al.* 2014).

Primeramente, se determinó el contenido total de compuestos fenólicos en las MPCs obtenidas, utilizando para ello el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu sobre el extracto resultante de la hidrólisis alcalina. El mayor contenido de fenoles totales hallado correspondió a las MPCs de la pulpa (19,4 mg ácido gálico/g MPCs), mientras que fue de 9,4 mg ácido gálico/g MPC para aquellas obtenidas de la piel.

Por otro parte, la hidrólisis ácida es el método tradicional para la determinación de agliconas de glicósidos flavonoides y de ésteres de ácidos fenólicos. Los resultados muestran que una baja proporción de compuestos fenólicos fueron liberados como resultado de la hidrólisis ácida (\approx 3,7 mg ácido gálico/g MPCs), tanto para las MPCs obtenidas del tejido de la pulpa como para las obtenidas a partir de la piel (**Tabla 2**).

Por lo tanto, luego del tratamiento con etanol que se utilizó para la obtención de estas MPCs hubo compuestos fenólicos residuales que permanecieron retenidos en el material de pared celular constituyente de las MPCs. Además, la mayor proporción se encuentra presente en las MPCs en forma asociada mediante uniones covalentes (hidrolizables por alcalinidad) a los biopolímeros de pared celular.

El contenido de fenoles obtenido por hidrólisis ácida para estas fibras resultó ser comparable al encontrado por Tsao *et al.* (2005) para el residuo seco del mesocarpio de la manzana (1,6-3,6 mg ác. gálico/g masa seca) y menor que el obtenido por Bravo *et al.*

(2007) para la yerba mate (80 mg ácido/g), mientras que el contenido de fenoles totales obtenidos fue menor que el reportado por Tseng *et al.* (2013) para fibras obtenidas sin previo tratamiento con etanol a partir del orujo de la uva (67,7 mg de ác. gálico/ g fibra).

Capacidad antioxidante

Se ha reportado en literatura que la capacidad antioxidante está, en general, directamente relacionada con el contenido de fenoles (Bravo *et al.* 2007), lo que constituye una cualidad importante a ser considerada desde el punto de vista nutricional y funcional como fibra dietaria o como potenciales aditivos o ingredientes para el caso de las MPCs obtenidas a partir de las ciruelas. Los compuestos fenólicos son antioxidantes primarios (Miková, 2001). Pueden atrapar intermediarios de oxígeno reactivo sin por ello promover nuevas reacciones oxidativas de radicales libres (Ainsworth y Gillespie, 2007).

Como la actividad antioxidante no enzimática suele estar mediada por reacciones redox y radicalarias, se determinó la capacidad antioxidante de las MPCs, respectivamente, mediante los métodos de FRAP y DPPH aplicados a los extractos metanólicos, y utilizando como patrón antioxidante al AA. El metanol extrae con eficiencia diferente a los polifenoles antioxidantes evaluados por los ensayos del DPPH y FRAP, con respecto a aquellos polifenoles que fueran extraídos en medios acuosos alcalino o ácido, destinados a determinar los respectivos contenidos en polifenoles totales y libres, por el método de Folin-Ciocalteu. Sin embargo, la extracción metanólica fue aquí realizada porque permite comparar la capacidad antioxidante de las fibras del presente trabajo, con otras reportadas en la

literatura. La capacidad antioxidante de las MPCs constituidas por la fibra aislada de la piel (exocarpio) fue mayor, tanto en su poder reductor (ensayo del FRAP) como en su poder atrapante de radicales libres (ensayo del DPPH) (**Tabla 2**). Estos resultados obtenidos tanto para las MPCs de exocarpio como para las de la pulpa de ciruela (**Tabla 2**), fueron superiores a los encontrados por Soares *et al.* (2013) en hojas de *Cymbopogon citratus*, con actividad medicinal. Estos autores determinaron por DPPH y por FRAP actividades antioxidantes equivalentes a 107,8 y 114,1 mg AA/100 g de hojas, respectivamente. Sin embargo, fueron menores a los valores hallados por Suárez *et al.* (2010) en pulpa de manzana. Ellos determinaron una capacidad antioxidante, por DPPH y FRAP, equivalente a 666 y 773 mg AA/100 g de manzana (base seca), respectivamente.

Tabla 2: Contenidos de polifenoles totales (fenoles de hidrólisis alcalina) y de polifenoles libres (fenoles de hidrólisis ácida), así como capacidad antioxidante (determinada por los métodos de FRAP y DPPH), de las micropartículas obtenidas a partir del mesocarpio (pulpa) y del exocarpio (piel) de las ciruelas.

	Micropartículas	
	Pulpa	Piel
Fenoles de hidrólisis ácida o no esterificados (mg ác. gálico/ g MPC)	3,7 ± 0,5	3,7 ± 0,2
Fenoles totales o de hidrólisis alcalina (esterificados y no esterificados) (mg ác. gálico/ g MPC)	19,4 ± 0,6	9,4 ± 0,9
DPPH (mg AA/100 g MPC)	289 ± 1	336 ± 1
FRAP (mg AA/100 g)	139 ± 5	218 ± 3

*Se informa el promedio y la desviación estándar (n=2)

CONCLUSIONES

Las MPCs obtenidas a partir de ciruelas, constituidas por los polímeros de la pared celular (fibra) del mesocarpio y del exocarpio, contienen compuestos fenólicos asociados. Además, sus extractos metanólicos mostraron capacidad antioxidante (reductora y de atrapamiento de radicales libres), pese al tratamiento con etanol aplicado para su obtención. Resulta por lo tanto promisorio la utilización de estas MPCs para el desarrollo de ingredientes y/o aditivos funcionales antioxidantes, a ser aplicados en la formulación de alimentos.

BIBLIOGRAFÍA

- Ainsworth EA, Gillespie KM. 2007. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. *Nature Protocols*, 2: 875–877.
- Basanta MF 2013. "Estudio químico y funcional de pectinas y glicanos entrecruzantes de paredes celulares de prunoideas". Tesis doctoral, Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Área Ciencias Químicas Orgánica.
- Basanta MF, de escalada Pla MF, Raffo MD, Stortz CA, Rojas AM. 2014. Cherry fibers isolated from harvest residues as valuable dietary fiber and functional food ingredients. *Journal of Food Engineering*, 126: 149–155.
- Benziea Iris FF y Strain JJ. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239: 70–76.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28: 25–30.
- Bravo L, Goya L, Lecumberri E. 2007. LC/MS characterization of phenolic constituents of mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hil.) and its antioxidant activity compared to commonly consumed beverages. *Food Research International*, 40: 393–405.
- Bunzel M, Ralph J, Marita JM, Steinhart H. 2000 Identification of 4-O-5-coupled diferulic acid from insoluble cereal fiber. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48: 3166–3169.
- Fry SC. 1986. Cross-linking of matrix polymers in the growing cell walls of angiosperms. *Annual Review of Plant Physiology*, 37(1): 165–186.

- Greenspan L, 1977. Humidity fixed points of binary saturated aqueous solutions. *Journal of research of the National Bureau of Standards- A. Physics and Chemistry Journal*, 81: (A1), 89–96.
- Larrauri J, Rupérez P y Saura-Calixto F. 1997. Mango peel fibres with antioxidant activity. *European Food Research and Technology*, 205:(1), 39-42.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193: 265–275.
- Miková K. 2001. The regulation of antioxidants in food. Pokorny In J, Yanishlieva N. & Gordon M. (Eds.), *Antioxidants in foods. Practical applications*, (chapter 11). CRC Press. Woodhead Publishing Limited. Cambridge, England. pag 267-283.
- Ng, A, Parr AJ, Ingham LM, Rigby NM, Waldron KM. 1998. Cell wall chemistry of carrots (*Daucus carota* CV. Amstrong) during maturation and storage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46: 2933-2939.
- Palafox-Carlos,H., Ayala-Zavala F. y Gonzalez-Aguilar, G. 2011. *Journal of Food Science*, 76:(1), R6–R15.
- Parr AJ, Waldron KW, Ng A, Parker ML. 1997 The wall-bound phenolics of Chinese water chestnut. *Journal of Science and Food Agriculture*,71: 501–507.
- Pulido R, Bravo L, Saura-Calixto F. 2000. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 3396–3402.
- Saura-Calixto, F. 1998. Antioxidant Dietary Fiber Product: A New Concept and a Potential Food Ingredient. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46: 4303-4306.
- Shi H. 2001. Introducing natural antioxidants. Pokorny In J, Yanishlieva N & Gordon M. (Eds.), *Antioxidants in foods. Practical applications*, (chapter 8). CRC Press. Woodhead Publishing Limited. Cambridge, England. pag 147-155.
- Shui G, Leong LP. 2006. Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals. *Food Chemistry*, 97: 277–284.
- Soares MO, Alves RC, Pires PC, Oliveira MBPP, Vinha AF. 2013. Angolan *Cymbopogon citratus* used for therapeutic benefits: Nutritional composition and influence of solvents in phytochemicals content and antioxidant activity of leaf extracts. *Food and Chemical Toxicology*, 60: 413-418.
- Suárez B, Álvarez AI, Diñeiro García Y, del Barrio G, Picinelli Lobo A, Parra F. 2010. Phenolic profiles, antioxidant activity and in vitro antiviral properties of apple pomace. *Food Chemistry*, 120: 339-342.
- Tsao R, Yang R, XIE S, Sockovie E, Khanizadeh S. 2005. Which Polyphenolic Compounds Contribute to the Total Antioxidant Activities of Apple?. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53: 4989–4995.
- Tseng A y Zhao Y. 2013. Wine grape pomace as antioxidant dietary fibre for enhancing nutritional value and improving storability of yogurt and salad dressing. *Food Chemistry*, 138: 356–365.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo financiero de la Universidad de Buenos Aires, CONICET y ANPCyT.

EFFECTO DE LAS COCCIONES DE VACÍO EN LA SEGURIDAD QUÍMICA DE REESTRUCTURADOS DE POLLO CON OMEGA 3

**Boari V.M.¹, Krumrick S.¹, Bagatoli P.¹, Gómez M.B.¹,
Melchiori M.C.¹,
Gallinger C.², Martínez Monzó J.³, García Segovia P.³**

1: UNER. Facultad de Bromatología. Gualeguaychú. Entre Ríos. Argentina

2: INTA. Estación Experimental Concepción de Uruguay. Entre Ríos. Argentina

3: CUINA. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia. España.
boarivirginia@yahoo.com.ar

Resumen: El calor acelera la oxidación de los omega 3 y aplicar adecuadas tecnologías de cocción puede protegerlos. El objetivo del trabajo fue estudiar el efecto de las cocciones de vacío en la elaboración de reestructurados de pollo omega3 con betaglucano, sin agregado de grasa, agua y sales. Por otro lado fue de interés comparar las tecnologías de cocción de vacío con las tradicionales aplicadas en la elaboración y antes del consumo. Tras los tratamientos térmicos se midió la estabilidad oxidativa, se evaluó aceptabilidad y preferencia sensorial y color instrumental, obteniendo los diagramas de dispersión de L*. No se encontró diferencias significativas de tbars debido a las precocciones de vacío, pero si debido al horneado. Los reestructurados de pollo ω3 suplementado con aceite de pescado dieron 377 μg/kg de MDA para sous vide, mientras que horneado dio 464. No hubo preferencia sensorial entre los reestructurados horneados o sous vide. Se encontró diferencias

significativas ($p < 0.05$) en L*, y los diagramas de dispersión de L* resultaron adecuados para representar el grado y heterogeneidad del pardeamiento. Sous vide no produjo cambio apreciable de color a simple vista siendo $\Delta E^* = 1,8$. Por protección antioxidante y fácil manipulación conviene precocinado cook vide al vapor posterior envasado al vacío y antes del consumo calentar sous vide en el mismo envase.

Palabras claves: reestructurado de pollo, omega 3, cook vide, sous vide.

Abstract: Heat accelerates the oxidation of omega 3 and apply appropriate cooking technologies can protect them. Our objective was to study the effect of vacuum cooking in developing omega3 restructured chicken with beta glucan, without added fat, water and salts. Furthermore we were interested in comparing vacuum cooking technologies with traditional applied in the development and prior to consumption. After the heat treatment was measured oxidative stability, sensory acceptability and preference and instrumental color was evaluated, obtaining the scatter diagrams of L*. No significant differences in TBARS were found due to vacuum precooking, but yes due to baking. Restructured Chicken w3 supplemented with fish oil gave 377 μg/kg of MDA for sous vide, while baked gave 464. There was no sensory preference between baked or sous vide restructured. Significant differences were found ($p < 0.05$) in L*, and scatter plots of L* were adequate to represent the degree of browning and heterogeneity. Sous vide did not produced no appreciable change of color by eye, being $\Delta E^* = 1,8$. For antioxidant protection and easy handling, it is convenient steam

precooking cook vide, the subsequent vacuum packed, and before consumption heat in the same container sous vide.

Keywords: restructured chicken, omega 3, cook vide, sous vide

INTRODUCCIÓN

Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga omega 3, se consideran nutrientes críticos para la salud humana y estos ácidos grasos constituyen una minoría de todos los ácidos grasos presentes en la dieta occidental. Las grasas ricas en AGP omega 3 están presentes en peces de aguas frías.

En animales monogástricos como las aves, tanto el contenido como la calidad de la grasa pueden variar en función de la alimentación animal y esto se ha aprovechado con éxito para modificar el perfil de ácidos grasos (Valsta *et al.*, 2005). Suplementar con aceites de lino y pescado el balanceado de las aves permite disponer de pollos de perfil lipídico enriquecido en omega 3 y emplearlos como materia prima en productos de innovación.

Se hace foco en la seguridad química porque son componentes estructurales de los tejidos, especialmente de los tejidos neuronales, y los AGP $\omega 3$ son susceptibles a la peroxidación lipídica formando compuestos perjudiciales para la salud. Entre los productos formados durante la peroxidación lipídica se incluye, el malondialdehído (MDA); que presenta una elevada capacidad de reaccionar con las bases de ADN, por lo que puede causar lesiones mutagénicas que pueden estar implicadas en la patogenia de varias enfermedades (Spiteller, 2006). La inocuidad hace referencia a todos los riesgos que pueden hacer que los alimentos sean nocivos para la salud del consumidor. Se trata de un objetivo innegociable. La calidad abarca todos los demás atributos que influyen en el valor de un producto para el consumidor. (OMS/FAO, 2003).

Además, la carne que se enriquece con AGP, puede ser aceptable cuando está recién preparada pero cuando es recalentada desarrolla sabores extraños, por tanto debe ser protegida contra la oxidación tanto en su estado crudo como cocido (Rymer, Gibbs & Givens, 2010).

Los AGP son un componente crítico. Los problemas de oxidación pueden aparecer en el alimento debido a la forma en que se elaboran, almacenan, distribuyen o preparan para el consumo, por lo que la protección antioxidante es prioridad y para ello resulta de suma importancia limitar la presencia de oxígeno, especialmente en los procesos de cocción donde la temperatura acelera las reacciones de oxidación. Los tratamientos de cocción de vacío: sous vide y cook vide, además de pertenecer a la tecnología más extendida de conservación de los alimentos (aplicación de calor), también podrían ser considerados como procesos antioxidantes, de acuerdo con Halliwell (2007), que define como antioxidante a "cualquier sustancia o acción que retrasa, previene o elimina el daño oxidativo de una molécula diana".

Reformular ingredientes para desarrollar nuevos productos saludables a base de pollo, es una estrategia que presenta ventajas, como beneficiarse de las propiedades organolépticas y del bajo valor calórico que lo identifican, generar valor agregado, e incorporar compuestos esenciales como los $\omega 3$. Al reformular para obtener productos saludables una posibilidad es reestructurar. Un producto se denomina reestructurado cuando se le trocea o pica y después conjuntamente con otros ingredientes o sin ellos se crea una estructura diferente que va a dar lugar a una nueva apariencia y textura.

Reestructurar hace posible la reducción de ingredientes no deseables, como el sodio o las grasas saturadas para prevenir

enfermedades crónicas nutricionales, y también favorece la fortificación que ha surgido como una alternativa ante la dificultad de cambiar los hábitos de consumo.

La fibra alimentaria es un elemento esencial en una dieta equilibrada. Se recomienda una ingesta de fibra en adultos de 20 a 30 g/día. Sumar un ingrediente como el salvado de avena, aporta fibra dietética. Las fibras aportan diversas propiedades en función de su composición y de su granulación. Su interés es doble como nutracéutico pero también actúa como ingrediente funcional. Desde el punto de vista nutricional la avena es una de las fuentes más ricas de betaglucano, compuesto del grupo fibra dietética de reconocidas propiedades en el proceso de mantenimiento del peso corporal como resultado de sus efectos sobre la saciedad. (Marlett, Mc Burney & Slavin, 2002). Además la Food and Drug Administration (FDA) americana tiene registrado el salvado de avena como el primer alimento que reduce el colesterol. Consumir al menos 3 g/día de betaglucano de avena podría reducir los niveles de colesterol en más de un 5%. Desde un punto de vista tecnológico el salvado de avena posee capacidad de fijar moléculas de agua e incrementar la viscosidad, característica verdaderamente importante como ingrediente funcional, mejora la capacidad de retención de agua, mejora el poder de gelificación, reduce la pérdida de rendimiento y mantiene la forma del producto después del cocinado (Brown *et al.*, 1999).

La técnica sous vide consiste en envasar el producto en una bolsa de material plástico con una baja permeabilidad al oxígeno y resistente a altas temperaturas. Los alimentos se enfrían rápidamente colocando las bolsas selladas al vacío en agua fría (3 - 4 °C) y luego se almacenan refrigerados o congelados (Creed & Reeve, 1998). La cocción cook vide, en condiciones de vacío

continuo, consiste en cocinar el producto en condiciones de presión subatmosférica (vacío), abatir inmediatamente y después envasar y refrigerar el alimento. Fue desarrollado en la Universidad Politécnica de Valencia (Martínez Monzó *et al.*, 2004). Es importante la elección del método de cocción empleado debido a que determina las propiedades del producto final. La **Tabla 1** presenta las principales características de las cocciones de vacío comparadas a alguna cocción tradicional.

Los objetivos de este trabajo fueron:

Estudiar el efecto de las cocciones de vacío en la elaboración de reestructurados de pollo omega3 con betaglucano, sin agregado de grasa, agua y sales.

Comparar las tecnologías de cocción de vacío con el horneado tradicional al ser aplicadas antes del consumo.

Tabla 1: Principales características de las cocciones de vacío aplicadas a los reestructurados de pollo con omega 3

	Sous-vide	Cook-vide al vapor	Traditional cooking
Temperatura	Temperatura de cocción <100 °C	Temperatura de cocción <100 °C	Temperatura de cocción ≥ 100 °C
Condiciones de vacío	Envasado al vacío antes de la cocción	Vacío durante el proceso de cocción	Cocción a presión atmosférica
Material en contacto con el producto	El alimento está en contacto con bolsas de vacío de uso alimentario	El alimento está en contacto con el medio de transmisión de calor	El alimento está en contacto con el medio de transmisión de calor
Estado del medio de cocción	Agua sin llegar al PE	Agua en PE	Puede no haber agua, como en el horneado, ó agua en PE

MATERIALES Y MÉTODOS

Las cocciones probadas fueron elegidas entre las que pueden ser aplicadas en cocina doméstica como en restauración colectiva. Las variables de cocción: tiempo, temperatura y exposición al oxígeno seleccionadas, debían satisfacer primero la condición de llegar a 74°C en el interior del producto, por seguridad alimentaria, y en segundo lugar mantener la barrera antioxidante al cocinar, como ocurre en la tecnología sous vide, o desarrollar caracteres sensoriales como sabor a tostado en el horneado

Obtención de la carne de pollo e identificación de las muestras

Los pollos parrilleros empleados fueron criados en la Estación Experimental INTA de Concepción del Uruguay por un período de 50 días aproximadamente.

En la alimentación de los mismos se emplearon 3 dietas (aclaración: esta nomenclatura se empleará en adelante):

- 1) Dieta control: con 4% aceite de soja.
- 2) Dieta lino: con 4% de aceite de lino.
- 3) Dieta pescado: con 2% de aceite de soja y 2% de aceite de pescado.

Todas las dietas estaban además suplementadas con 200 mg/kg de vitamina E como antioxidante.

Ingredientes

a) Carne de pollo

La cantidad de grasa en la carne de pollo puede variar significativamente dependiendo de la parte consumida, aspecto

importante a tener en cuenta es que eliminando la piel del pollo se elimina con gran facilidad la mayor parte de la grasa del pollo. En la elaboración se usó la carne del pollo entero deshuesado, picada tras quitarle la piel y la grasa. Toda la carne obtenida de tres aves por dieta se troceó a cuchillo y se picó dos veces en picadora de carne marca Alexander número 8.

b) Salvado de avena

El salvado de avena, en bolsas de 350 g, se adquirió en el mercado local. En la **Tabla 2** se registra la información nutricional del mismo según la información aportada por la empresa envasadora.

Tabla 2: Información nutricional del salvado de avena según etiquetado

Salvado de avena	
Información Nutricional	g ó Kcal /100g
Calorías (kcal)	377
Proteínas (g)	16
Carbohidratos (g)	6,7
Grasas (g)	5

c) Condimentos

Para aromatizar y dar sabor se emplearon especies como ajo, pimienta, orégano, tomillo y romero.

Elaboración de los medallones

En una balanza electrónica se pesaron los ingredientes a utilizar en la formulación, sin añadir en ningún momento agua ni agentes reestructurantes. Para uniformar la mezcla se utilizó una

multiprocesadora Atma, modelo mp8601. Se homogeneizó bien con un tiempo de procesado de 5 minutos. Tras la homogenización la pasta obtenida se estiró con palote de cocina hasta obtener un espesor de 1,5 cm y luego se cortaron medallones mediante un utensilio corta-pasta de acero inoxidable de 10 cm de diámetro. La **Tabla 3** muestra la composición de la fórmula cruda de los reestructurados.

Tabla 3: Composición centesimal de la fórmula de la pasta cruda

Fórmula de los reestructurados	
Ingredientes	g/100g
Carne de todo el pollo, desgrasada sin piel y picada	84,3
Salvado de avena	15,3
Condimentos (ajo, pimienta, orégano, tomillo, romero)	0,4

Tratamientos

Efecto del Precocinado

Los reestructurados de un mismo lote se dividieron en 2 grupos para ser precocinados (ver **Figura 1**):

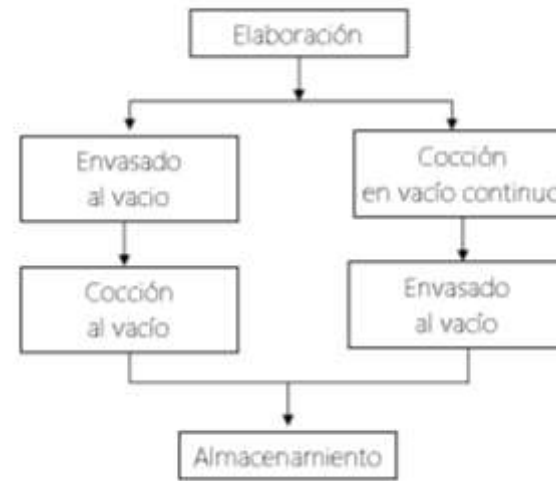


Figura 1: Esquema de los procesos de precocinado aplicados.

a) El grupo 1 fue precocinado mediante proceso sous vide a 80°C - 10', colocados, en un baño de agua de temperatura controlada y con agitación, Roner Compact (Barcelona, España) según Church & Parson (2000). Para ello se envasaron, antes de la cocción, en bolsas de polietileno termorresistentes a 100 % vacío mediante una envasadora Vacpack (International Cooking Concepts, Barcelona, España.)

b) Al grupo 2 se realizó un precocinado al vapor en condiciones de vacío continuo cook vide también a 80° C durante 10' empleando una olla Gastrovac y el accesorio para cocción al vapor. Después de descender a 3-4°C la temperatura los reestructurados se envasaron al vacío del mismo modo que los sous vide.

Los productos, precocinados y correctamente etiquetados, se dividieron en dos subgrupos. Parte se almacenó en refrigeración a 4 °C y parte en congelación a -24°C.

Efecto del Precocinado y Cocinado Precocinado

Los reestructurados elaborados con pollos dieta control, dieta lino y dieta pescado fueron precocinados sous vide. En sous vide, para evitar la cocción insuficiente, es muy importante que las bolsas estén completamente sumergidas, que no estén dispuestos herméticamente o que se superpongan (Rybka Rodgers, 1999).

Cocinado

Se emplearon diferentes sistemas de regeneración, elegidas dentro de las convencionales destinadas a un consumidor individual y/o servicio de restauración colectiva (**Figura 2**).

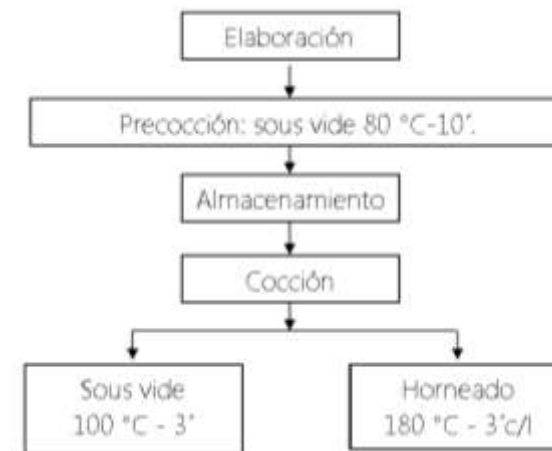


Figura 2: Esquema de los procesos de precocinado y cocinado

a) Sous vide

Siguiendo la recomendación de Bello Gutiérrez, (1998) para la regeneración de productos cárnicos mediante sous vide, se empleó temperatura de 100°C-3 minutos en un baño de agua.

b) Horneado convencional

Tanto el tiempo como la temperatura se determinaron en este caso mediante pruebas previas hasta obtener leve apariencia de tostado. De este modo la regeneración se llevó a cabo a 180 °C durante 3 minutos por cada lado con el fin de desarrollar caracteres sensoriales como sabor tostado.

Análisis

Determinación de la estabilidad oxidativa

Se siguió el método de Grau, Guardiola, Boatella, Barroeta & Codony (2000).

Análisis Sensorial

El panel de jueces consumidores, también denominados jueces afectivos (Espinosa Manfugás, 2007), estuvo conformado por 40 personas voluntarias de la Facultad de Bromatología, de las cuales 29 correspondían al sexo femenino y el resto al sexo masculino. Se realizó una prueba de Preferencia pareada sobre regeneración para el consumo: al horno vs. sous vide. La interpretación de las respuestas se realizó consultando la tabla de Roessler et al., (1956).

Colorimetría

Se empleó un colorímetro Hunterlab mod. MINISCAN EZ. Las mediciones de color se realizaron cuando el producto, colocado sobre una rejilla, alcanzaba la temperatura ambiente. Se tomaron aproximadamente 35-40 medidas de la cara superior, por cada reestructurado, de los n=4 que representaban cada muestra, lo que hace un mínimo de 140 datos por tratamiento. Los autores Rodríguez Pulido, González Miret, Gómez Robledo & Heredia, (2010), emplearon 140 datos del parámetro L^* para estudios de heterogeneidad cromática.

Análisis estadístico

El análisis de los datos físico químicos se realizó mediante el programa estadístico Systat v.12. Se aplicó ANOVA para un nivel de confianza ($p < 0.05$) y se utilizó el test de Duncan para comparación de medias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estabilidad oxidativa

Estadísticamente permitió detectar que los tratamientos térmicos en calor moderado probados en este estudio no afectan de modo diferente ($p < 0,05$), las estabilidad oxidativa de los reestructurados como puede verse en la **Tabla 4** de resultados del análisis de varianza.

Tabla 4: Estabilidad oxidativa en $\mu\text{g/kg}$ de MDA. Media \pm DE entre paréntesis.

Tratamiento	Dieta del ave	Tecnología de calor	MDA \pm DE $\mu\text{g/kg}$	p
precocinado	d.pescado	sous vide	271 ^a (0.035)	0.005
	d.control d.lino		273 ^a (0.025) 347 ^b (0.040)	
	d.pescado	cook vide al vapor	302 ^a (0.035)	0.302
precocinado y cocinado	d.pescado	sous vide	377 ^b (0.061)	0.031
		horneado	464 ^c (0.033)	

^{abc}Diferente letra como superíndices indica medias diferentes.

Los tratamientos de cocción de vacío: sous vide y cook vide, además de pertenecer a la tecnología más extendida de conservación de los alimentos, mediante la aplicación de calor,

también podrían ser considerados como procesos antioxidantes, resultado que concuerda con lo enunciado por Cassi, (2011) acerca de la técnica de cocción sous vide: En el campo de las técnicas de procesamiento térmico presenta acción antioxidante.

Análisis Sensorial

Prueba de Preferencia pareada sobre reestructurado cocidos sous vide y horneado.

La interpretación de las respuestas se realizó consultando la tabla de Roessler et al., (1956). El valor crítico de jueces; en "prueba de 2 colas" para ($p < 0.05$); con respuestas coincidentes para que haya diferencia significativa fue: valor crítico = 24. Indica cuántos jueces deben haber preferido una cierta muestra para que en realidad haya preferencia significativa. Ninguna muestra evaluada alcanzo este número de preferencia. De lo expuesto resulta que no hubo preferencia significativa ($p < 0.05$) por un tipo de cocción de los ensayados (**Tabla 5**).

Tabla 5: Resultados de la prueba de preferencia

Prueba de preferencia pareada		
jueces n =34	Reestructurados dieta lino	
	sous vide 100°C-3'	horneado 180 °C-3'c/ l
preferencia	13	21
Valor crítico 24 ($p < 0,05$)		

Colorimetría

Tratamiento: Precocinado

Parámetros del CIE L*a*b*, tono, croma

En la **Tabla 6** se registraron los parámetros de color para los reestructurados de pollo, precocinados y elaborados con pollo de las 3 dietas de crianza. El ANOVA y la comparación de medias por el test de Duncan, indican que hay diferencias muy significativas para el valor de luminosidad de cada muestra, por el contrario para el resto de los parámetros no hubo diferencia significativa

Tabla 6: Parámetros de color de los reestructurados de pollo de 3 dietas de crianza, precocinados sous vide (80°C-10'). Media + DE (entre paréntesis).

Reestructurados precocinados sous vide					
Dieta	L*	a*	b*	C*	H*
d.lino	71,7 ^a (0,8)	2,9 (0,2)	21,5 (0,8)	21.7 (0.8)	1.44 (0.01)
d.pescado	70,3 ^b (1)	2,9 (0,2)	21,6 (0,8)	21.8 (0.8)	1.44 (0.01)
d.control	71,1 ^c (0,6)	2,8 (0,1)	21,9 (0,4)	22.1 (0.4)	1.44 (0.01)

Letras diferentes en superíndice indica medias estadísticamente diferentes ($p < 0.05$)

Diferencias de color en reestructurados precocidos

En la **Tabla 7** se registraron el valor ΔE^*_{ab} . Estadísticamente se encontraron diferencias significativas de L^* no apreciables a simple vista por el ojo humano.

Tabla 7: Diferencias de color detectables de los reestructurados de pollo de 3 dietas de crianza, (con aceite de pescado, con aceite de lino, y control), precocinados sous vide (80°C-10').

ΔE^* (al ojo humano > 3)	
lino vs pescado	1,41
lino vs control	0,70
pescado vs control	0,88

Diagramas de dispersión de Luminosidad

En la **Figura 3** se presentan los valores de luminosidad (L^*) de los reestructurados precocidos mediante curvas de distribución normal. Dos cuestiones interesa destacar de los resultados: 1) la posición de la altura máxima del pico, en la escala descendente de L^* , que coincide con la media de luminosidad de la muestra; y 2) la forma del pico: un pico más achatado se debe a una dispersión mayor de los valores de L^* , e indica aumento de heterogeneidad cromática. En principio, representar con un pico cada tratamiento, permitió disponer de una descripción, gráfica y objetiva, sobre el desarrollo de color debido a la precocción; así como la identificación del producto y el estudio del efecto que las cocciones producen sobre el color de las muestras.

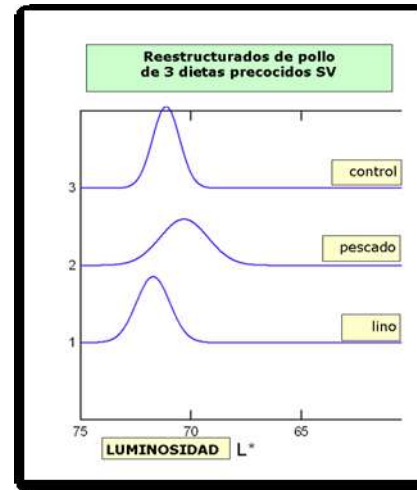


Figura 3: Diagramas de dispersión de Luminosidad de precocinados

Tratamiento: Reestructurados de pollo precocidos sous vide y cocidos

Parámetros del CIE $L^*a^*b^*$, tono, croma

En la **Tabla 8** se presentan los valores de L^* , a^* , b^* , C^* (croma, saturación o pureza de color), H^* (tono angular). Entre paréntesis se registra la desviación estándar. Estos parámetros caracterizan el efecto del cocido sobre el color de los reestructurados a causa de la cocción por una técnica de vacío (sous vide) respecto de una tradicional (horneado)

Tabla 8: Parámetros de color de los reestructurados de pollo dieta pescado, regenerados para el consumo

Dieta pescado	L*	a*	b*	C*	H*
Cocinado sous vide	68.8 ^a (0.8)	3.0 (0.1)	22.6 (0.6)	22.8 ^a (0.6)	1.44 ^b (0.004)
Cocinado horneado	60.3 ^b (0.8)	6.6 (0.3)	31.3 (0.5)	32.0 ^b (0.5)	1.36 ^a (0.01)

Las letras diferentes en superíndices indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

Diferencias de Color

Los valores de ΔE (diferencia de color) indican cambios de color ocurridos en los reestructurados de dieta de las aves con aceite de pescado a causa del tratamiento de cocción, es decir el mismo producto antes y después de ser cocido, en la **Tabla 9**, se indica la diferencia de color entre reestructurados cocidos de una misma dieta de las aves, a causa de aplicar cocciones diferentes. También se presentan la diferencia de color, debido al efecto de las cocciones probadas.

Tabla 9: Diferencias de color en reestructurados de pollo dieta pescado

ΔE^* (apreciable por el ojo humano > 3)	
d.pescado antes y después de cocinado sous vide	1,8
d.pescado antes y después de cocinado horneado	14,4
d.pescado horneado vs d.pescado sous vide	12,7

La cocción que menos modifica el color, tomando como referencia ΔE^* de la tabla 11, es la cocción sous vide, la diferencia

debe superar el valor 3 ó umbral de percepción. (Bodart, de Peñaranda, Deneyer, & Flamant, 2008).

La comparación pone en evidencia el efecto protector del envase para el desarrollo de color. Esto es debido a la protección del envase sellado al vacío, que limitó la exposición al oxígeno, la oxidación y el pardeamiento, y solo se evidencia instrumentalmente al compararlo con el producto no regenerado. El valor de estos resultados se relaciona a poder disponer de una caracterización objetiva del efecto de las cocciones aplicadas en el color de los productos estudiados, y quizás en futuros desarrollos tecnológicos empleando un colorímetro como sensor en líneas de producción.

Diagramas de dispersión de la Luminosidad

En la **Figura 4** se presentan los valores de luminosidad (L^*) de reestructurados precocinados y cocinados correspondientes a las aves con dieta pescado.

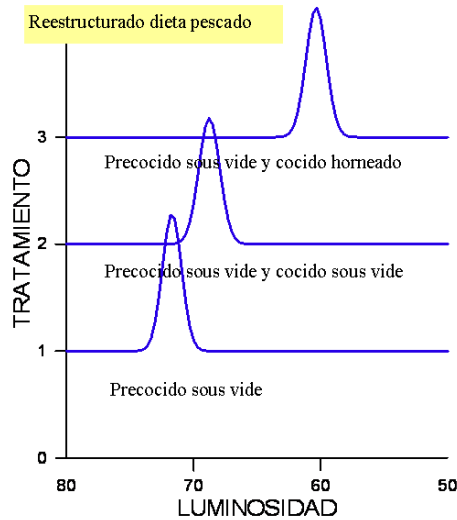


Figura 4: Diagramas de dispersión de L* en reestructurados de dieta de pescado precocinados y cocinados

La escala invertida de L* indica que los picos hacia la derecha corresponden a las muestras que han desarrollado más color, debido a reacciones de Maillard durante los tratamientos de cocción; información que coincidió con la apreciación visual de las muestras, y que es imposible de describir sin introducir la incertidumbre propia de las observaciones subjetivas, mientras que el parámetro L* reflejó de modo objetivo e inequívoco el grado de tostado del producto.

Los valores de este atributo (L*), oscilaron entre 70,3 para el reestructurado precocido y para los reestructurados cocidos 68,8 y 60,3 cocidos sous vide y horneado, respectivamente. Valores más altos de L*, lo presentaron el precocido y el cocido sous vide, que concurda con menor exposición a acciones

oxidantes y menor desarrollo de la reacción de Maillard, debido a la protección que realiza el envase al vacío y demás condiciones de la tecnología sous vide.

Resulta interesante comparar estos resultados con los obtenidos en la estabilidad oxidativa. Las medias de tbars (ver **Tabla 4**), expresadas en $\mu\text{g}/\text{kg}$ de MDA, presentan orden inverso a L* debido al tratamiento térmico aplicado. En tbars, expresadas como MDA ($\mu\text{g}/\text{kg}$) estos valores fueron: precocinado: d.pescado sous vide: 271; cocinados: d.pescado sous vide: 377, y d.pescado horneado: 464.

El deterioro de la apariencia de los productos cárnicos se relaciona con cambios de color. (Mead, 2004; y Antoniewski *et al.*, 2007). Una aplicación comúnmente encontrada de la colorimetría es el seguimiento o evolución del producto en el tiempo. Villegas *et al.*, 1999; Antoniewski *et al.*, (2007); estudian el deterioro del color en el almacenamiento y métodos de protección del color. Otros autores aplican la colorimetría para evaluar el efecto debido a cambios de ingredientes o de proporciones en la fórmula (Acevedo Hernández, 2004); o para caracterizar de manera objetiva los productos desarrollados, (Andrés *et al.*, 2009; García Iñiguez *et al.*, 2010; Cori Carillo, 2012; Morales Irigoyen *et al.*, 2012); sin embargo no se encontraron publicaciones en las que realizaran curvas de distribución de L* como indicador de heterogeneidad debidas a tratamientos de cocción en productos cárnicos de pollo.

CONCLUSIONES

El perfil lipídico del pollo empleado, determina la estabilidad oxidativa del producto elaborado.

Los reestructurados de pollo de dieta omega 3 con aceite de lino precocinados sous vide dan mayores valores de Tbars ($p < 0,05$) que los de dieta control y pescado.

En los reestructurados dieta pescado, luego de la precocción sous vide y cook vide al vapor, no hay diferencias de Tbars.

En los reestructurados dieta pescado, el segundo tratamiento térmico previo al consumo aumenta los valores de Tbars. Existe diferencias significativa entre el efecto del horneado y sous vide dando mayores valores de tbars el horneado.

En el análisis sensorial no hubo preferencia significativa ($p < 0,05$) por un tipo de cocción de los ensayados.

La tecnología sous vide permite controlar con precisión el tiempo y la temperatura y mantiene la protección del envase al vacío durante el segundo tratamiento térmico, que protege el producto con omega 3 de la oxidación lipídica limitando la formación de sustancias reactivas al ácido Tiobarbitúrico.

No hubo procesos oxidativos intensos, ningún producto superó los 800 $\mu\text{g}/\text{kg}$ MDA (Cortinas et. al, 2005).

Los diagramas de dispersión de L^* indican que es un parámetro adecuado para indicar el grado de pardeamiento y la evolución de la apariencia de este producto cárnico.

Estos reestructurados surgen como una alternativa real y viable ofreciendo al consumidor una nueva gama de productos saludables y al mercado una nueva alternativa para su

comercialización, la opción de reestructurar se presenta como una salida adecuada desde un punto de vista económico.

BIBLIOGRAFÍA

Acevedo Hernández, C.J., (2004). Desarrollo, optimización y estudio de vida útil de nugget de pollo liviano en calorías y con calcio. Tesis doctoral. Facultad de Cs. Qcas. Y Farmacéuticas. Universidad de Chile.

Andrés, S., Zaratsky, N. & Califano, A. (2009). Innovations in the development of healthier chicken sausages formulated with different lipid sources. *Poultry Science*, 88:1755-1764.

Antoniewski, M.N., Barringer, S.A., Knipe, C.L. & Zerby, H.N. (2007). *Journal of Food Science*, 72(6):382-387.

Bello Gutiérrez, José. (1998). Cap. 7. Los tipos de cocción. Cocciones especiales. *Ciencia y Tecnología Culinaria*. (pp. 179-187). Madrid: Ediciones Díaz de los Santos.

Bello, J. (2006). La ciencia de los alimentos saludables: una panorámica actual. *Ars Pharm.*, 47(2):137 – 171.

Bodart, M., de Peñaranda, R., Deneyer, A., & Flamant, G. (2008). Photometry and colorimetry characterisation of materials in daylighting evaluation tools. *Building and Environment*, 43:2046–2058.

Brown, L., Rosner, B., Willett, W.W. & Sacks, F.M., (1999). Cholesterol lowering effects of dietary fiber: a meta analysis. *Am J. Clin Nutr.*, 69:30-42.

Cassi, Davide (2011). *Ciencia y Cocina: la era de la cocina molecular*. *EMBO Rep.*, 12(3): 191-196. Consultado el 24 de

octubre de 2013 en
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3059914/>
Church, I.J. & Parson, A.L. (2000). The sensory quality of chicken and potato products prepared using cook-chill and sous vide methods. *International Journal of Food Science and Technology*, 35:155-162.
Cori Carillo, M.E. (2012). Factibilidad de uso de la carne de codorniz macho en la elaboración de productos cárnicos para el consumo humano. Tesis Doctoral. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía.
Cortinas, L., Barroeta, A., Villaverde, C., Galobart, J., Guardiola, F. & Baucells, M.D. (2005). Influence of the Dietary Polyunsaturation Level on Chicken Meat Quality: Lipid Oxidation. *Poultry Science*, 84:48-55.
Creed, P.G. & Reeve, W.G.Z., (1998). Principles and applications of sous vide processed foods. In: Ghazala, S. (Ed.), *Sous Vide and Cook Chill Processing for the Food Industry*. Aspen Publishers Inc., Gaithersburg, USA, pp. 25-56.
Dietary Guidelines for Americans. (2010). US Department of Health and Human Services (HHS) and the US Department of Agriculture (USDA). (<http://health.gov/dietaryguidelines/dga2010/DietaryGuidelines2010.pdf>, accessed 22 February 2012).
Espinosa Manfugás, J.C. (2007). Evaluación Sensorial de los Alimentos. La Habana: Editorial Universitaria.
García Iñiguez de Ciriano, M., Rehecho, S., Calvo, M.I., Cavero, R., Navarro, I., Astiasarán, I. & Ansorena, D. (2010). Effect of lyophilized water extracts of *Melissa Officinalis* on the stability of algae and linseed oil in water emulsion to be used as a functional ingredient in meat products. *Meat Science*, 85:373-377.

Grau, A., Guardiola, F., Boatella, J., Barroeta, A., & Codony, R. (2000). Measurement of 2-Thiobarbituric Acid Values in Dark Chicken Meat through Derivative Spectrophotometry: Influence of Various Parameters. *J. Agric. Food Chem.*, 48:1155-1159.
Halliwell, B. (2007). Dietary polyphenols: Good, bad, or indifferent for our health? *Cardiovasc. Res.*, 73:341-347.
Jiménez Colmenero, F. (2007). Healthier lipid formulation approaches in meat based functional foods. Technological options for replacement of meat fats by non meat fats. *Trends Food Sci. Technol.* 18: 567-578.
Marlett, J.A., McBurney, M.I., & Slavin, J.L., (2002). Position of the American Dietetic Association Health: implications of dietary fiber. *J. Am. Dietet. Assoc.*, 102(7):993-1000.
Martínez Monzó, J., Andrés, J., Torres, S., Sanjuán, N. & García Segovia, P., (2004). System for vacuum cooking of food. ES 1057342U. (A47J27/04), 10 Q August 2004. U200400864, 1 April 2004. 8p.
Mead, G.M. (2004). Keeping poultry meat fresh. *Food Sci. Technol.*, 19(1):20-21.
Morales Irigoyen, E.E., Severiano Perez, P., Rodriguez Huevo, M.E. & Totosaus, A. (2012). Textural, physicochemical and sensory properties compensation of fat replacing in pork liver paté incorporating emulsified canola oil. *Food Science and Technology International*, 18(4):413-421.
Roessler, E., Baker, G. & Amerine, M. (1956). One tailed and two tailed test in organoleptic comparisons. *Food Res.*, 21:117-125.
Rybka Rodgers, S. (1999) Developing a HACCP plan for extended shelf life cook-chill ready to eat meals. *Food Australia*, 51:430-433.
Rymer, C., Gibbs, R.A. & Givens, D.I. (2010). Comparison of algal and fish sources on the oxidative stability of poultry meat and its

enrichment with omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Poultry Science*, 89:150-159.

Spiteller, G. (2006). Peroxyl radicals: inductors of neurodegenerative and other inflammatory diseases. Their origin and how they transform cholesterol, phospholipids, plasmalogens, polyunsaturated fatty acids, sugars and proteins into deleterious products. *Free Rad Biol Med.*, 41:362-387.

Valsta, L. M., Tapanainen, H. & Mannisto, S. (2005). Meat fats in nutrition – a review. *Meat Science*. Disponible en www.sciencedirect.com

Villegas, R., O'Connor, T.P., Kerry, J.P., Buckley, D.J. (1999). Effect of gelatin dip on the oxidative colour stability of cooked ham and bacon pieces during frozen storage. *Journal of Food Science Technol.*, 34(4):385-389.

**DETERMINACIÓN DE UMBRALES DE DETECCIÓN EN
EXTRACTOS DE SAPONINAS DE QUINOA
(*CHENOPODIUM QUINOA WILD*) POR EL MÉTODO
DE ÍNDICE R.**

Bonfiglio, G.V.¹, Goldner, M.C.^{1,2}, Armada, M.^{2,3}

1: Instituto de Investigación Sensorial de los Alimentos (IISA), Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Nacional de Salta.

2: Instituto para la Investigación de la Industria Química – Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (INIQUI – CONICET). Salta, Argentina.

3: Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de Salta.
cristigol@gmail.com; gise23829@gmail.com

Resumen: El objetivo de este trabajo fue determinar los umbrales de detección de amargor en extracto de saponinas de quinoa y en el mismo extracto secado por pulverización. Un grupo de 66 panelistas no entrenados realizaron la prueba de índice R por quintuplicado. El umbral definido, de manera individual, como el nivel de discriminación de la señal (extractos de saponinas) contra un ruido (agua) se calculó cuando el índice R alcanzó 0,75. Para el extracto de saponinas el rango de umbral de detección de amargor fue de 0,027 a 0,04 ml/100ml. Con respecto al extracto secado por pulverización el rango de umbral de detección resultó de 0,0048 a 0,0143 g/100ml.

Palabras clave: umbrales, quinoa, índice R, secado por pulverización, amargor.

Abstract: The objective of this study was to determine the bitterness threshold of detection in extracts of quinoa saponins and, in the same extract, dried by the spray method. Untrained panelists (66 people) determined the detection threshold by the R index test for quintuplicate. The threshold, individually defined as the level of discrimination of the signal (saponins extracts) against a noise (water), was calculated when the R index reaches 0.75. The bitterness detection threshold for the saponins extract ranged from 0.027 to 0.04 ml / 100ml. With respect to the spray-dried extract, the detection threshold ranged from 0.0048 to 0.0143 g / 100g.

Keywords: thresholds, quinoa, R index, spray drying, bitterness.

INTRODUCCIÓN

La quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild.) es una quenopodiácea cultivada en el altiplano sudamericano desde épocas preincaicas. La distribución del cultivo se localiza en Bolivia, Perú, Colombia, Ecuador, Chile y Argentina (Ortiz et al. 1998). Perteneció a la familia *Chenopodiaceae*, género *Chenopodium*, sección *Chenopodia* y subsección *Cellulata* (Mujica et al. 1996).

La semilla de la quinoa constituye el fruto maduro sin el periógeno; puede ser de forma lenticular, elipsoidal, cónica o esférica. Presenta tres partes bien definidas: episperma, embrión y perisperma. La primera está constituida por cuatro capas: una externa (pericarpio) de superficie rugosa, quebradiza que se desprende fácilmente y es donde se ubican las saponinas que le otorgan un sabor amargo; la segunda capa es muy delgada y lisa y se observa sólo cuando la primera capa es traslúcida; la tercera capa es de color amarilla, delgada y opaca y la cuarta capa es traslúcida y está constituida por un solo estrato de células (Villacorta et al. 1976). Desde el punto de vista de la composición química contienen hidratos de carbono (77,6 %), proteína (12,9 %), lípidos (6,5%), aminoácidos como lisina y metionina, fibra dietética y minerales (3,0 %) (Ando et al. 2002).

A pesar de su alto valor nutricional las saponinas, debido a su sabor intensamente amargo, impiden su utilización como una fuente práctica y económica para el procesamiento de alimentos comerciales. Las saponinas son metabolitos secundarios que se presentan en forma de glucósidos (Brady et al. 2007); pueden tener un esqueleto de tipo esteroide o de tipo triterpenoide, que dan lugar a dos grandes familias: las saponinas esteroidales y las

saponinas triterpénicas (Royero 1997). La cantidad de este compuesto es muy variable entre las diferentes variedades de quinoa y, de acuerdo con la concentración se distingue entre "quinoa dulce" que contiene menos de 0,11% de saponinas y "quinoa amarga" que contiene más de 0,11% de saponinas (Gee et al. 1993, Ruales y Nair 1993). Estos compuestos se pueden eliminar por el método de descascarado abrasivo o por el método más tradicional del lavado de los granos con agua (Koziol 1991).

El índice R es una medida de probabilidad; es la probabilidad de que un juez distinga correctamente entre dos estímulos. Es una medida útil para determinar diferencias entre ambos, pero también es una técnica para evaluar medidas de sensibilidad (umbrales) (O'Mahony 1985).

Nachtsheim y Schlich (2013) estudiaron la percepción del contenido de grasa en leches a niveles umbrales y supraumbrales a través del método del índice R. En función del contenido de grasa la medida de índice R fue de 0,54 para la comparación de la leche con un contenido de grasa de 1,5 % y 3,5 %, y de 0,64 para la comparación de las emulsiones con un contenido de grasa de 70 % y 90 %. Robinson *et al.* (2004) estudiaron el umbral de amargor de la cafeína a través del método de índice R. Determinaron que el rango de umbral de cafeína fue de 0,0015 a 0,0959 g/100 ml, con una media de 0,0237 g/100 ml.

Por otro lado, Chaparro Hernández *et al.* (2013) investigaron el efecto en las características sensoriales de salchichas adicionadas con harina de cáscara de naranja como fuente de fibra a través del método de índice R. Para el sabor de las muestras con cáscara de naranja el valor del índice R fue de 0,83 comparando con las salchichas tradicionales; mientras que para la firmeza fue de 0,87. No se encontraron antecedentes de trabajos donde se

utilice este método para determinar umbrales en saponinas de quinoa.

El objetivo de este trabajo fue determinar los umbrales de detección de amargor en extractos de saponinas de quinoa y en el mismo extracto secado por pulverización.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras

Se obtuvo un extracto de saponinas de quinoa con una solución de etanol al 30%; y sucesivas diluciones (0,02 – 0,05 y 0,08 ml/100 ml) en agua destilada. Una parte de este extracto fue secado por pulverización en un equipo Buchi Mini Spray Dryer modelo B290 y se prepararon diluciones de 0,004 – 0,01 y 0,015 g/100 ml en agua destilada.

Pruebas sensoriales: índice R

Las mediciones se realizaron con un panel constituido por 66 personas sin entrenar (46 mujeres y 20 hombres) con edades comprendidas entre 18 y 38 años. Antes de comenzar debían probar la concentración máxima de la señal (0,08 ml/100ml para el extracto y 0,015 g/100ml para el secado por pulverización) y el ruido (agua) e indicar si percibían alguna diferencia. Esta condición fue excluyente para participar de las pruebas.

Luego, a cada panelista se le presentó cuatro muestras, tres señales (diluciones del extracto de saponinas) y un ruido (agua). Después de probar cada muestra debía utilizar el siguiente sistema de anotación: S=está seguro que es S, S?= tal vez es S,

pero no estoy seguro, N= está seguro que es N, N?= tal vez es N, pero no estoy seguro.

La fórmula utilizada para el cálculo fue:

$$IR = \frac{[a(f+g+h) + b(g+h) + ch + \frac{1}{2}(ae+bf+cg+dh)]}{Ns \times Nn}$$

Donde:

a = total de respuestas seguras "S" de la muestra S

b = total de respuestas inseguras "S?" de la muestra S

c = total de respuestas inseguras "N?" de la muestra S

d = total de respuestas seguras "N" de la muestra S

e = total de respuestas seguras "S" de la muestra N

f = total de respuestas inseguras "S?" de la muestra N

g = total de respuestas inseguras "N?" de la muestra N

h = total de respuestas seguras "N" de la muestra N

Se determinó el umbral de detección del gusto amargo, de manera individual, definido como el nivel de discriminación del estímulo o señal (soluciones de extractos) contra un blanco (ruido o agua en este caso) cuando el índice R alcanza 0,75, es decir cuando la señal se detectó el 75 % de las veces que se presentó. Cada evaluador realizó la prueba por quintuplicado. El mismo procedimiento se utilizó para las muestras del extracto secado por pulverización.

Análisis de datos

Los datos se analizaron con un análisis de la varianza y prueba de Tukey para determinar diferencias de los valores de índice R,

entre los panelistas y entre las muestras. Prueba t de Student para determinar diferencias entre los umbrales de detección según el tipo de extracto.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para el extracto de saponinas el rango de umbral de detección fue de 0,0270 a 0,064 ml/100ml; 11 evaluadores superaron la región lineal que incluye el índice de 0,75 y 5 evaluadores estuvieron por debajo de 0,75. La **Figura 1** muestra un ejemplo del cálculo del mismo para un panelista. Los valores se encuentran dentro del rango informado por Robinson *et al.* (2005) para la cafeína con este mismo método: 0,0015-0,0959 g/100ml.

En cuanto al panel hubo tres jueces que tuvieron medias de índices R altos ($0,99 \pm 0,03$) y uno con índices bajos $0,30 \pm 0,1$ ($p < 0,05$).

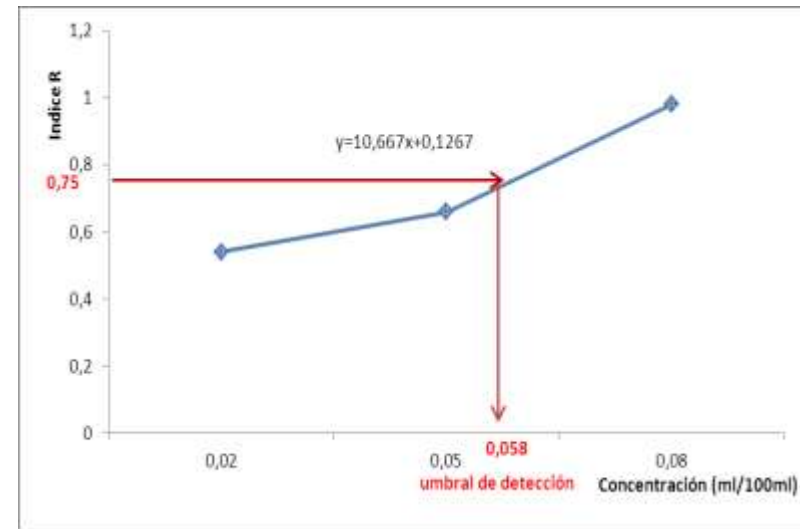


Figura 1: Ejemplo del cálculo del umbral de detección a través del índice R para un panelista.

Con respecto al extracto de saponinas secado por pulverización el rango de umbral de detección fue de 0,0048 a 0,0143 g/100ml; 9 panelistas tuvieron índices por debajo de 0,75 y solo uno tuvo valores más altos. Estos valores también se hallan dentro de los valores reportados por Robinson *et al.* (2005) para la cafeína. Con respecto al panel hubo un evaluador con medias de índices inferiores ($0,29 \pm 0,14$) y dos con índices medios superiores ($0,88 \pm 0,12$).

En la **Figura 2** se puede observar que los índices R para el estímulo líquido fueron mayores ($p < 0,05$) en las concentraciones 0,05 y 0,08 ml/100ml (0,81 y 0,86 respectivamente). Con respecto

al extracto secado por pulverización los índices R fueron inferiores a 0,75 en todas las concentraciones utilizadas.

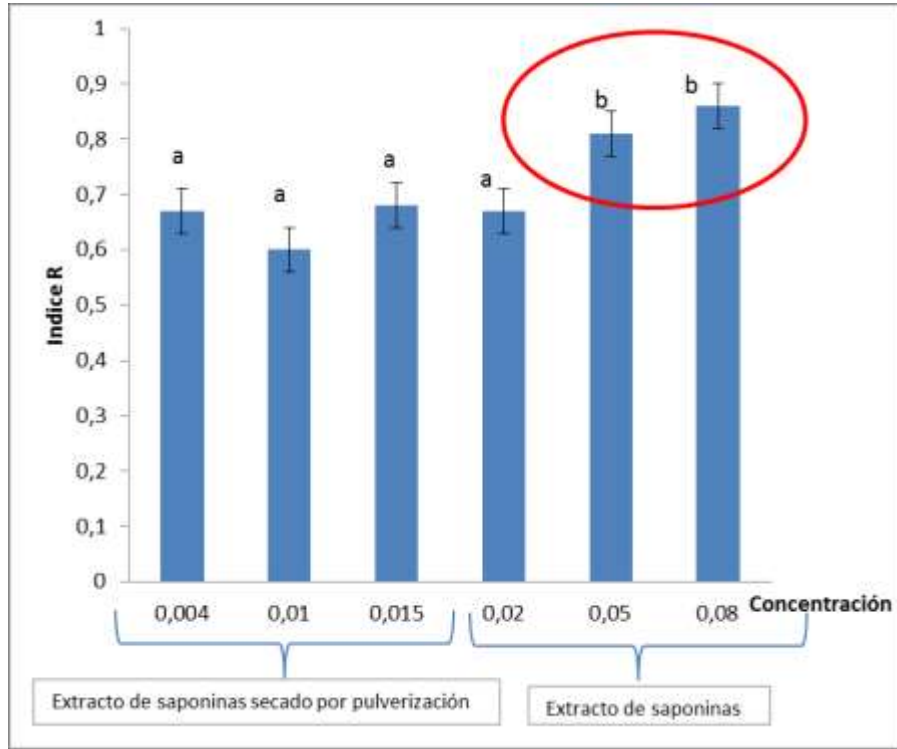


Figura 2: Valores de índices R según tipos de extractos.

La prueba t de Student mostró diferencias altamente significativas ($p < 0,001$) entre los umbrales de detección según el tipo de extracto, siendo menor en el secado por pulverización (0,01).

Otros autores determinaron el umbral de detección del gusto amargo en productos a base de quinoa. Gómez – Caravaca y cols. (2014) eliminaron las saponinas por el proceso de nacarado o de abrasión. Con un grado de abrasión del 20% se redujo a 129,8 mg de saponinas/100g (contenido inicial 244,3 mg/100g); sin embargo todavía se detectaba el gusto amargo. Con un 30% de grado de abrasión el contenido de saponinas se redujo a 50,88 mg/100g logrando que no se perciban. Koziol (1991) determinó por prueba de ordenamiento ascendente y comparación de una referencia que el umbral de amargor se detecta cuando el contenido de saponinas es de 110 mg/100g en harina de quinoa (variedad Sajama) y en mezclas de harina (Sajama: LR02).

Una ventaja de este método es que permite al panelista utilizar su mismo criterio simultáneamente frente a las muestras que se presentan, lo cual disminuye el sesgo (Robinson *et al.* 2005) sin embargo puede ocurrir una adaptación al estímulo y fatiga sensorial debido al número de muestras necesario para realizar la prueba (Lawless y Heymann 1999).

CONCLUSIONES

El método del índice R permitió hallar valores umbrales dentro de los reportados para otras sustancias amargas. Los resultados son de gran utilidad para la industria que utiliza este grano como materia prima al momento de tener que eliminar saponinas.

BIBLIOGRAFÍA

- Ando H, Chen Y, Tang H, Shimizu M, Watanabe K, Mitsunga T. 2002. Food components in fractions of quinoa seed. Food Science and Technology Research. 8: 80 – 84.
- Brady K, Ho CT, Rosen RT, Sang SM, Karwe MV. 2007. "Effects of processing on the nutraceutical profile of quinoa". Food Chemistry. 40: 618 – 621.
- Chaparro Hernández J, Castillejos Gómez BI, Escutia RPC, Escalona Buendía HE, Pérez Chabela ML. 2013. Evaluación sensorial de salchichas con harina de cáscara de naranja y/o penca de maguey. Nacameh. 7: 23 – 40.
- Gee JM, Price KR, Ridout CL, Wortley GM, Hurrell RF, Johnson IT. 1993. Saponins of quinoa (*Chenopodium quinoa*): Effects of processing on their abundance in quinoa products and their biological effects on intestinal mucosal tissue. Journal of the Science of Food and Agriculture. 63: 201 – 209.
- Gómez-Carvaca AM, Lafelice G, Verardo V, Marconi E, Caboni MF. 2014. Influence of pearling process on phenolic and saponin content in quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*). Food Chemistry 157, 174-178.
- Koziol MJ. 1991. Afrosimetric estimation of threshold saponin concentration for bitterness in quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*). Journal of the Science of Food and Agriculture. 54: 511 – 219.
- Lawless H.T. y Heymann H. 1999. Measurement of sensory thresholds. En: Sensory evaluation of food: principles and practices. Chapman and Hall Ed. Pág. 173-207

- Mujica A; Izquierdo J. 1996. "Capítulo I. En: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación". FAO.
- Nachtsheim R, Schlich E. 2013. The influence of 6-n-propylthiouracil bitterness, fungiform papilla count and saliva flow on the perception of pressure and fat. *Food Quality and Preference*. 29: 137–145.
- O'Mahony, M. 1986. Appendix E. Sensory Multiple-Difference Testeing, Using the R-Index to Ascertain Degrees of Difference. En: *Sensory evaluation of food. Statistical methods and procedures*. M. Dekker. Ed. New York. Pág 389-397.
- Ortiz R, Ruiz Tapia EN, Mujica – Sánchez A. 1998. "Sampling strategy for a core collection of Peruvian quinoa germplasm" en *Theoretical Applied Genetics*. 96: 475 – 483.
- Robinson, K.M. Klein, B.P. y Lee, S.Y. 2005. Utilizing the R index measure for threshold testing in model caffeine solutions. *Food Quality and Preference*. 16: 283-289.
- Royero R. 1997. "Obtención de crudos de saponinas hipocolesteromizantes del *Chenopodium quinoa Wild*". *Revista Cubana de Medicina Militar*. 26 (1).
- Ruales J, Nair BM. 1993. Saponins, phytic acid, tannins and protease inhibitors in quinoa (*Chenopodium quinoa Wild*) seeds. *Food Chemistry*. 48: 137 – 143.
- Villacorta L y Talavera V. 1976. Anatomía del grano de quinua (*Chenopodium quinoa Wild*). *Anales científicos*. Vol. XIV: 39-45. Universidad Nacional Agraria. Lima, Perú.

ESTUDIO DE LA MADURACIÓN DE QESOS DE CABRA TÍPICOS DE JUJUY

Burgos L.¹, Jiménez P.³, Pece N.², Maldonado S.¹

1: Laboratorio IdeAR – CITA. Facultad de Ingeniería. UNJu. e-mail:

2: ICyTA. Facultad de Agronomía y Agroindustrias. UNSE.

3: INIQUI. Laboratorio de Alimentos. UNSa.

smaldonado@fi.unju.edu.ar

Resumen: Se estudiaron 1) el avance de la proteólisis y la lipólisis durante la maduración de quesos de cabra y 2) el perfil de textura durante la maduración. Se elaboraron quesos usando leche de cabras criollas de la Quebrada jujeña. Se tomaron muestras después de 5 horas de elaboración y de 10, 20 y 30 días de maduración. El avance de la lipólisis se estudió a través del perfil de ácidos grasos libres (AGL) y el de la proteólisis mediante el índice de maduración (ID), determinándose los parámetros cinéticos para ambos. La evolución de la lipólisis y de la proteólisis, siguió una cinética de primer orden. Los ID de nitrógeno soluble y nitrógeno no proteico aumentaron significativamente hasta los 20 días. Se observó que los AGL de cadena media y larga disminuyeron durante el estudio aunque se mantuvieron constantes entre los 10 y 20 días. Se evaluó el perfil de textura, encontrándose que la cohesividad, elasticidad, gomosidad y masticabilidad presentaron un punto de inflexión a los 20 días de maduración. Los fenómenos fisicoquímicos asociados a la maduración del queso presentaron cambios moderados durante el estudio. A los 20 días de maduración se produjeron las principales modificaciones en el perfil de textura.

Palabras Clave: cinética, hidrólisis, lipólisis, fracciones nitrogenadas.

Abstract: The aims of this study were 1) to study the progress of proteolysis and lipolysis during ripening of goat cheeses and 2) to determine the texture profile of ripened goat cheeses. Cheeses were made using creole goat milk from *Quebrada jujeña*. Samples at 5 hours of elaboration and the 10, 20 and 30 days of ripening were taken. The progress of lipolysis was studied through the profile of free fatty acids (FFA). Proteolysis was monitored by the rate of maturation. Evolution kinetics of proteolysis and lipolysis was determined over time. Medium and long chain FFA decrease at 10 days, remain constant until 20 days, decreasing to the end of the study. The evolution of lipolysis and proteolysis followed a first order kinetics. Maturation rates of soluble nitrogen and non-protein nitrogen increased significantly up to 20 days. The texture profile was evaluated. We found that the cohesiveness, springiness, gumminess and chewiness had an inflection point at 20 days of ripening. The physical and chemical phenomena associated with the ripening of Creole goat cheese had moderate changes during the period of this study. Major changes in the texture profile were obtained after 20 days of ripening.

Keywords: kinetics, hydrolysis, lipolysis, nitrogen fractions.

INTRODUCCIÓN

La maduración es el proceso por el cual el queso fresco se transforma en queso maduro, un producto muypreciado por sus características de textura, aroma y sabor. Esta transformación se produce debido a que en la matriz ocurre una compleja serie de reacciones bioquímicas, que pueden ser clasificadas como primarias y secundarias. Las primeras involucran la proteólisis, la lipólisis y las asociadas al metabolismo de la lactosa residual, del citrato y del lactato, mientras que las segundas incluyen las relativas al metabolismo de los aminoácidos y de los ácidos grasos. Además de estas transformaciones enzimáticas, durante la maduración ocurren también procesos de naturaleza física, como la difusión de la sal y la evaporación del agua (McSweeney y Fox, 2004).

En particular, la proteólisis está representada por el conjunto de reacciones que involucran la degradación de las proteínas a péptidos de diversos tamaños y aminoácidos libres. Su importancia radica en su efecto sobre la textura y el flavor del producto (Ramonda, 2009). La variación de las concentraciones de los diferentes aminoácidos está relacionada con la tecnología de fabricación (tipo de coagulante, adición de proteasas, starters, condiciones de maduración), el tiempo de maduración y el grado y tipo de proteólisis (Pintado *et al.*, 2008; Pino *et al.*, 2009).

Una de las metodologías utilizadas para evaluar la proteólisis es la que evalúa el contenido de nitrógeno soluble en diversas fracciones obtenidas a partir del extracto acuoso del queso y refleja el grado de avance y la profundidad de la misma. La primera de las fracciones, el contenido de nitrógeno soluble a pH

4,6 o nitrógeno soluble (NS), está compuesta por proteínas del suero, productos de bajo peso molecular procedentes de la hidrólisis de las caseínas y aminoácidos libres. La fracción de nitrógeno soluble en ácido tricloroacético o nitrógeno no proteico (NTCA) es la segunda de las fracciones y está constituida por péptidos medios y pequeños, y aminoácidos libres. Por último, la fracción de nitrógeno soluble en ácido fosfotúngstico (NPTA) que incluye péptidos muy pequeños, aminoácidos y compuestos nitrogenados menores.

Por otra parte, la lipólisis de los triglicéridos con liberación de ácidos grasos y glicerol, mono y diglicéridos, se considera esencial para el desarrollo de aroma y sabor en quesos (Collins *et al.*, 2003). Los ácidos grasos liberados durante la lipólisis, especialmente los de cadena media y corta contribuyen, junto a los compuestos volátiles formados y a la proteólisis, a la formación del flavor del queso (Delgado *et al.*, 2011). El grado de lipólisis depende de la variedad de quesos, es por ello que algunos autores han sugerido la posibilidad de caracterizar los quesos según su estado de maduración teniendo en cuenta el perfil de ácidos grasos libres de cadena corta, media y larga (Collins *et al.*, 2003).

Los cambios en la composición del queso durante la maduración influyen en su textura, por ello el perfil de textura se utiliza para caracterizar tipos de quesos. Las variaciones en el perfil de textura están afectadas tanto por las características de la leche de cabra de cada lugar como por las variables de proceso utilizadas en la elaboración (Delgado *et al.*, 2012; Fresno y Alvarez, 2012).

La textura de un queso es un atributo sensorial que resulta de la combinación de propiedades físicas que son percibidas por los sentidos de la vista, el tacto y hasta el oído (Pinho *et al.*, 2004). A pesar de que esta experiencia sensorial no puede ser

completamente duplicada por ningún procedimiento instrumental, estos últimos son considerablemente menos costosos y consumen menos tiempo que las pruebas sensoriales, siendo correlacionables con atributos sensoriales críticos que permiten estimar la aceptabilidad por parte del consumidor (Steffe, 1996). En este sentido, las propiedades mecánicas del queso se manifiestan por su reacción al estrés provocado por una presión ejercida durante la simulación de la fuerza de masticación (Pinho *et al.*, 2004), utilizando para ello un texturómetro que permite establecer la fuerza necesaria para efectuar una prueba de compresión en dos ciclos en función del tiempo, lo cual se denomina análisis del perfil de textura (TPA) (Bourne 2002).

En la región de la Quebrada jujeña se produce y comercializa queso de cabra fresco, sin maduración. Sin embargo para comercializar en otros mercados es necesario incluir esta etapa, al menos por 30 días, según ensayos exploratorios realizados.

Considerando a la proteólisis y la lipólisis como las principales reacciones químicas que se desarrollan durante la maduración de los quesos, con efecto significativo sobre la calidad de los mismos, los objetivos de este trabajo fueron: 1) evaluar el avance de la proteólisis y la lipólisis durante la maduración de quesos de cabra criolla de la provincia de Jujuy, 2) determinar la cinética de la proteólisis y la lipólisis durante la maduración, a través de la evolución de los índices de maduración de las fracciones nitrogenadas y los ácidos grasos libres en el tiempo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con leche proveniente de una majada conformada por cabras criollas, pertenecientes a un tambo caprino ubicado en la Quebrada de Humahuaca, de la localidad de Bárcena, Departamento de Tumbaya, Jujuy, Argentina, con alimentación por pastoreo y sin suplementación.

La leche para estudio se trasladó al laboratorio, refrigerada y en envases de acero inoxidable, inmediatamente después del ordeño.

Para la elaboración de los quesos se pasteurizó la leche cruda (65°C, 30 min). Se enfrió luego hasta 38°C y se agregó fermento láctico CHR HANSEN RST 743. Simultáneamente se agregó 0,02% (p/v) de CaCl₂. Se adicionó cuajo comercial líquido CHYMAX a razón de 50 ml cada 100 litros de leche. Luego se cortó la cuajada con una lira hasta obtener granos de un tamaño de 1,5 cm. Se dejó reposar la cuajada y se desueró. Se realizó salado en seco y en capas, por agregado de NaCl directamente sobre la cuajada y durante el moldeo. Luego del prensado el producto salado se almacenó en cámara frigorífica durante 30 días a 10°C y 90% de humedad relativa. Se extrajeron un mínimo de tres muestras del lote en maduración para el estudio de la lipólisis, la proteólisis y el análisis de textura, en los siguientes tiempos: t₁: 5 horas, t₂: 10 días, t₃: 20 días y t₄: 30 días,

Se evaluó la evolución de las fracciones nitrogenadas: nitrógeno no caseínico (NNC), nitrógeno no proteico (NTCA) y nitrógeno soluble en ácido fosfotúngstico (NPTA). Se utilizó la metodología descrita por Bernal *et al.*, (2001). La determinación de Nitrógeno, tanto en las muestras de queso como en las distintas fracciones nitrogenadas, se realizó por el método de Kjeldahl (AOAC 955.04 c). La relación entre la fracción de nitrógeno

soluble y la proteína se expresó como el índice de maduración (% del Nitrógeno total).

$$\text{Índice de maduración} = \frac{\text{Nitrogeno Sble. (NS)}}{\text{Nitrogeno Total (NT)}} \times 100$$

Se identificaron y cuantificaron los AGL por cromatografía gaseosa a partir de muestras transesterificadas con metilato de sodio según la norma UNE 55-037-73 (Aenor, 1991), con detector FID en columna capilar. Para el análisis se empleó un Cromatógrafo Gaseoso Agilent 6890 System Plus con Inyector automático y detector de ionización de llama (FID). Se usaron como estándares ésteres metílicos (Sigma). Las columnas capilares empleadas fueron: columna capilar de 30 m L * 250 µm I.D., 0.25 µm df HP-INNOWAX y columna capilar de 30 m L * 250 µm I.D., 0.25 µm df DB-225 J&W 122-2232.

Para el estudio de los cambios texturales de los quesos se utilizó un Analizador de Textura QTS 25 con una sonda cilíndrica de acrílico de 26 mm de diámetro. Se obtuvieron cubos de 2 cm x 2 cm x 2 cm de cada queso elaborado. Se analizaron tres muestras de los quesos de cada tiempo a temperatura de refrigeración (7 °C). El perfil de textura fue determinado a partir de una doble compresión. La velocidad de descenso fue de 2 mm/s, con un grado de compresión del 25% de la altura de la muestra. Este test proporcionó seis parámetros diferentes: dureza, gomosidad, adhesividad, cohesividad, masticabilidad y elasticidad.

Los datos obtenidos para cada tiempo se analizaron utilizando el análisis de la varianza y prueba de Rangos Múltiples de Tukey, con un nivel de confianza del 95%.

Se determinó, a cada tiempo preestablecido, la cinética de proteólisis a través de la evolución en el tiempo de los índices de

maduración de las fracciones nitrogenadas y la cinética de la lipólisis a través del cambio en el tiempo del perfil de AGL, usando la siguiente expresión para la velocidad de reacción:

$$(1) \quad \frac{dQ}{dt} = \pm k Q^n \quad (2)$$

donde Q representa la concentración del parámetro asociado a la reacción de hidrólisis (AGL- índice de proteólisis), k es la constante de velocidad de la reacción y n el orden de la reacción.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los cambios en la composición del queso de cabra estudiado se muestran en la **Tabla 1**.

Tabla 1: Composición fisicoquímica de los quesos madurados (g/100g).

Parámetro	Inicial	10 días	20 días	30 días
Proteína	18,6±0,7 ^(a)	21,8±0,4 ^(b)	21,5±0,1 ^(b)	21,3±0,5 ^(b)
Grasa	18,0±0,8 ^(a)	18,9±0,3 ^(a)	25,6±0,8 ^(b)	29,6±0,8 ^(c)
Humedad	50,1±0,7 ^(a)	42,3±0,7 ^(b)	38,1±0,7 ^(c)	31,1±0,8 ^(d)

Valores promedio en la misma fila con letras distintas son significativamente diferentes (P<0.05).

A medida que avanza la maduración la humedad disminuye y la grasa aumenta significativamente. De acuerdo al Código Alimentario Argentino (Art. 605) los quesos se clasificarían al inicio como quesos blandos magros y al final del estudio como quesos duros semigrasos.

Los valores experimentales promedio, obtenidos respecto a la evolución del índice de maduración de las fracciones nitrogenadas a los distintos tiempos de maduración se muestran en la **Figura 1**.

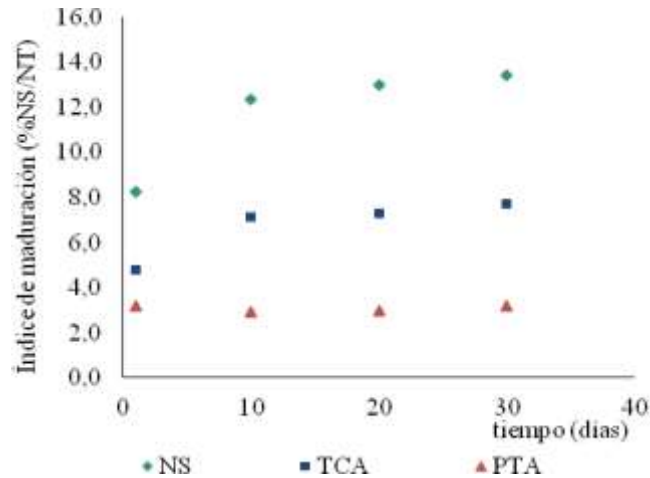


Figura 1: Índice de maduración de las fracciones nitrogenadas del queso de cabra.

Se observa que los índices resultantes de las fracciones de NS y TCA aumentaron en forma progresiva con el tiempo de maduración, lo que indica que en los quesos se desarrolló la proteólisis implicando la liberación de sustancias de menor peso molecular, más solubles en agua y en tricloroacético que los de la matriz inicial.

A partir de los 10 días de maduración la fracción NS (12,3) mostró diferencias significativas respecto al inicial (8,2), estabilizándose a los 20 días. Ferrandini *et al.* (2011) y Oliszewski

et al. (2008) encontraron valores iniciales del índice de maduración similares (8,0). A los 30 días se obtuvieron valores inferiores a los reportados por Tejada *et al.* (2008) y Pino *et al.* (2009). Esto puede estar relacionado con una menor retención de la quimosina en la cuajada (Prieto *et al.*, 2004). La cantidad de quimosina retenida en la cuajada está fuertemente influenciada por el pH durante el desuerado, siendo mayor a valores de pH inferiores a 5,2 (Polychroniadou *et al.*, 1999). En este estudio el pH fue de 5,8. Según Bustamante *et al.* (2003) el incremento en NS durante las primeras etapas de la maduración es causado por la actividad de proteasas endógenas en la leche, el coagulante residual y en menor medida la actividad residual de las proteasas del fermento.

La fracción TCA presentó igual comportamiento que la fracción NS durante la maduración. Esta fracción se considera tradicionalmente como un índice de la profundidad de maduración ya que se compone principalmente de nitrógeno amoniacal, péptidos pequeños de 2 a 20 residuos y aminoácidos libres (Prieto *et al.*, 2004; Tejada *et al.*, 2008). Los componentes de esta fracción de nitrógeno se deben principalmente a las enzimas de origen microbiano que actúan sobre los grandes péptidos liberados por la quimosina y sobre α -caseína (Prieto *et al.*, 2004). A los 30 días la fracción TCA fue de 7,7%, valor similar a lo reportado por Delgado *et al.* (2011) y Tejada *et al.* (2008): 6,76% y 7,51%, respectivamente. Estos autores concluyeron que la proteólisis presentó una profundidad intermedia en quesos de cabra madurados.

Durante el tiempo de estudio la fracción PTA no presentó diferencias significativas. Resultados similares informaron Delgado *et al.* (2012) y Pino *et al.* (2009). Esta fracción proporciona un índice de la producción de aminoácidos libres

durante la maduración del queso y se relaciona con el nitrógeno amoniacal, que refleja la capacidad de la desaminación ejercida sobre los aminoácidos libres por parte de la flora microbiana (Prieto et al., 2004). Al no presentar cambios durante los 30 días de maduración se podría suponer una baja capacidad de desaminación del cultivo láctico utilizado.

Los índices de maduración de las distintas fracciones nitrogenadas se ajustaron estadísticamente para determinar los parámetros cinéticos, es así que la regresión lineal obtenida para los quesos de cabra de distintos tiempos de maduración muestra una reacción de orden 1, según se observa en la **Figura 2**.

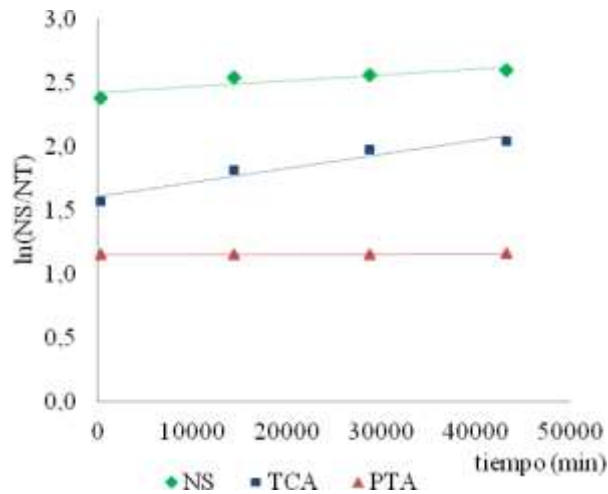


Figura 2: Cinética de proteólisis medida por la evolución del índice de maduración, para las tres fracciones: NS, TCA y PTA.

De acuerdo a estos resultados e integrando la ecuación (2) para n igual a 1 se tiene que la ecuación que representa la hidrólisis, medida a través de los distintos índices de maduración, en las muestras evaluadas es:

$$\ln\left(\frac{Q_0}{Q_t}\right) = kt \quad (3)$$

Donde Q_0 corresponde al valor inicial (tiempo cero), del parámetro asociado a la hidrólisis en cada caso y Q_t es el valor al tiempo t . En estas condiciones los resultados obtenidos para las constantes de velocidad de proteólisis de los quesos de cabra fueron $1 \cdot 10^{-5} \text{ min}^{-1}$ (R^2 : 91,6%); $1 \cdot 10^{-5} \text{ min}^{-1}$ (R^2 : 94,0) y $3 \cdot 10^{-6} \text{ min}^{-1}$ (R^2 : 94,2%), para la fracción NS, TCA y PTA, respectivamente.

Los datos obtenidos son consistentes con el hecho de que durante la maduración del queso las paracaseínas de la cuajada son hidrolizadas catalíticamente por la proteasa de la leche, las enzimas del cuajo empleado, las enzimas de los cultivos añadidos y las de los microorganismos de la leche original y del producto en fase de elaboración. Los principales productos de la hidrólisis de las caseínas son las α_1 -caseínas, β -caseínas y κ -caseínas, durante la proteólisis primaria. Los productos de proteólisis secundaria incluyen aquellas proteínas, péptidos y aminoácidos solubles en la fase acuosa del queso y son extraíbles en la fracción soluble en agua.

Para la evaluación de la lipólisis se compararon los resultados obtenidos expresándolos en base seca, a fin de observar claramente el comportamiento de los AGL durante el tiempo de maduración estudiado. En la **Figura 3** se observa la variación de

los ácidos grasos libres totales, en base seca, a los distintos tiempos considerados.

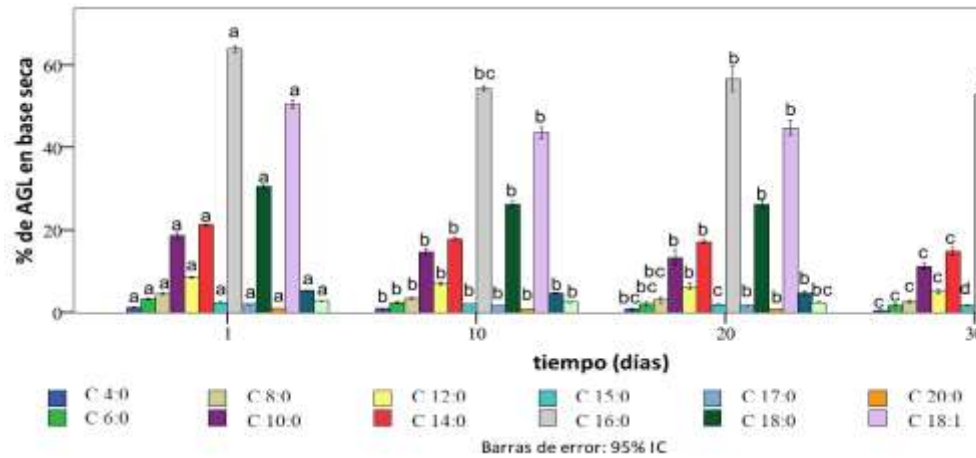


Figura 3: Contenido de ácidos grasos (b.s.) durante el tiempo de estudio.

Se encontró que los quesos de cabra estudiados tienen mayor contenido en ácidos de cadena larga como el palmítico, oleico, esteárico y mirístico. Se observó la disminución continua de los AGL de cadena corta a medida que transcurre el tiempo de maduración, no así de los ácidos de cadena media y larga, los que disminuyen a los 10 días, se mantienen constantes hasta los 20 días, disminuyendo luego hasta el final del estudio, lo que muestra la evolución de su hidrólisis. Distinto comportamiento presentaron los ácidos linoleico y araquidónico, los que disminuyeron su concentración significativamente a los 10 días, sin presentar luego diferencias hasta el final del estudio. Así también el ácido pentadecanoico presentó un comportamiento

diferente dado que su concentración disminuyó significativamente durante todo el tiempo de maduración evaluado. El comportamiento descrito difiere de los reportados por Bontinis *et al.* (2012) y Atasoy y Türkoğlu (2009), quienes informan que todos los AGL aumentan a medida que transcurre la maduración. Esto puede deberse a que la lipólisis producida en los quesos de cabra estudiados está regida por la acción de lipasas propias de la leche y de los cultivos iniciadores. Además es necesario considerar que durante la maduración de los quesos los AGL se pueden originar a partir de 3 vías bioquímicas principales: lipólisis, proteólisis y fermentación de lactosa. Las enzimas con actividad lipolítica (esterasas, lipasas) pueden causar la liberación de ácidos grasos de cadena lineal (butanoico, pentanoico, hexanoico, heptanoico, octanoico, decanoico y dodecanoico), mientras que las enzimas proteolíticas son responsables de la formación de ácidos grasos de cadena ramificada mediante la desaminación de aminoácidos (Curioni y Bosset, 2002). Según Delgado *et al.* (2009), las lipasas responsables de la producción de AGL tienen su origen más probable en la leche cruda y no en las bacterias ácido lácticas. En este sentido, muchos tipos de quesos italianos elaborados a partir de leche cruda (ej. Reggiano, Grana Padano, Provolone) presentan altos niveles de lipólisis debido a la acción de las lipasas de la leche (Collins *et al.*, 2003). Los contenidos de AGL, a los distintos tiempos de maduración, se ajustaron estadísticamente para determinar el orden de la reacción.

La regresión lineal obtenida para los quesos de cabra fue logarítmica para todos los AGL, demostrando que la reacción es de orden 1. Los parámetros de la ecuación de regresión, que

modela la cinética de hidrólisis de los AGL, se presentan en la **Tabla 2**.

Tabla 2: Parámetros de la cinética de hidrólisis de AGL de los quesos madurados.

Ácidos Grasos Libres	Q_0 (% AGL*)	k (min^{-1})	R^2
C _{4:0}	0,207	-2.10 ⁻⁵	99,5
C _{6:0}	1,156	-2.10 ⁻⁵	97,1
C _{8:0}	1,468	-1.10 ⁻⁵	95,8
C _{10:0}	2,901	-1.10 ⁻⁵	97,1
C _{12:0}	2,136	-1.10 ⁻⁵	98,2
C _{14:0}	3,035	-8.10 ⁻⁶	94,6
C _{15:0}	0,877	-8.10 ⁻⁶	96,2
C _{16:0}	4,054	-2.10 ⁻⁶	91,4
C _{17:0}	0,656	-7.10 ⁻⁶	92,1
C _{18:0}	3,394	-6.10 ⁻⁶	88,1
C _{20:0}	0,103	-6.10 ⁻⁶	98,9
C _{18:1}	3,891	-5.10 ⁻⁶	94,1
C _{18:2}	1,643	-4.10 ⁻⁶	90,1
C _{18:3}	1,009	-4.10 ⁻⁶	98,4

* % AGL en base seca.

De acuerdo a los valores de las constantes de velocidad de lipólisis k , que se muestran en la **Tabla 2**, los AGL de cadena corta presentan velocidades de hidrólisis estadísticamente superiores a los de cadena media y larga, por lo que su contenido disminuye significativamente.

Es importante tener en cuenta que durante el proceso de maduración la hidrólisis enzimática de la materia grasa no fue selectiva, ya que no se utilizaron lipasas exógenas, las que

podrían efectuar una liberación preferencial de ácidos grasos a partir de la grasa de la leche, similar a lo reportado por Perotti et al. (2008) en queso Reggiano.

Los cambios en el perfil de textura de los quesos madurados se muestran en la **Tabla 3**, en la que no se incluyeron los resultados obtenidos a los 10 días, debido a la gran variabilidad en los parámetros de textura.

Tabla 3: Parámetros de textura de los quesos madurados.

Parámetro	Inicial	20 días	30 días
Dureza (N)	4,5±0,4 ^(a)	10,1±0,5 ^(b)	34,9±5 ^(c)
Gomosidad (N)	3,7±0,2 ^(a)	5,1±0,9 ^(ab)	10,9±5 ^(b)
Adhesividad (N s)	-0,24±0,01 ^(a)	-0,054±0,001 ^(b)	-0,017±0,001 ^(c)
Cohesividad	-0,83±0,04 ^(a)	-0,57±0,02 ^(b)	-0,76±0,03 ^(a)
Masticabilidad (N cm)	0,64±0,07 ^(a)	1,5±0,1 ^(b)	1,8±0,3 ^(b)
Elasticidad (cm)	0,16±0,01 ^(a)	0,24±0,03 ^(b)	0,151±0,006 ^(a)

Valores promedio en la misma fila con letras distintas son significativamente diferentes (P<0,05).

La dureza aumentó durante el tiempo de estudio, lo que se relaciona con las modificaciones ocurridas en la composición química del queso. La humedad es un factor determinante en la textura: bajos contenidos (<40%) se asocian con quesos duros y poco elásticos (Chacón Villalobos y Pineda Castro, 2009). La grasa, cuando está presente en alto porcentaje (>32%), brinda mayor elasticidad y menor firmeza, obteniéndose quesos más duros y rígidos con contenidos de grasa inferiores al 10% (Küçüköner y Haque 2006, Theophilou y Wilbey 2007). De acuerdo al contenido de humedad el queso de cabra estudiado mostró, al inicio de la maduración, valores de humedad que permiten asociarlo con un queso de pasta blanda, mientras que a

los 30 días de maduración se puede clasificar como un queso semiduro, de acuerdo al Código Alimentario Argentino.

Al igual que la dureza la adhesividad aumentó significativamente con el tiempo de maduración, coincidiendo con lo indicado por Álvarez *et al.* (2007) y Osorio *et al.* (2004). Estos cambios en la textura se pueden relacionar al aumento en la concentración de nitrógeno soluble y en la degradación de la caseína, durante la maduración. Según Tobón *et al.* (2004) la estructura proteica está directamente relacionada a los contenidos de materia grasa y de agua de la matriz, obteniéndose quesos duros cuando las concentraciones disminuyen y texturas débiles cuando éstas aumentan.

La gomosidad aumentó durante la maduración, presentando diferencias significativas entre el inicio y el final del estudio, lo que estaría influenciado por la cohesividad. Esta última presentó un máximo (-0,57) a los 20 días, comportamiento concomitante a la elasticidad que mostró un máximo (0,24 cm) en el mismo tiempo. Chacón Villalobos y Pineda Castro (2009) informan que conforme aumenta la elasticidad del producto, aumenta también su resistencia a la deformación por la flexibilidad de los enlaces internos, razón por la cual también debería aumentar la cohesividad. Como generalmente la humedad de los quesos disminuye con la maduración, es de esperar que la cohesividad de los quesos frescos sea mayor a la de los quesos madurados, tal y como lo observaron Van Hekken *et al.* (2002) en un queso de cabra de pasta blanda. Sin embargo los valores de cohesividad de las muestras evaluadas al inicio del estudio y luego de 30 días de maduración, no presentaron diferencias significativas. Teniendo en cuenta que durante el tiempo de estudio el queso evoluciona desde "pasta blanda" a "semiduro", el comportamiento encontrado podría atribuirse a las diferencias

de textura por cambio en el tipo de queso, en coincidencia con lo informado por Delgado *et al.* (2011).

En cuanto a la masticabilidad, se observó que cuánto más maduro está el queso, más energía se requiere para masticarlo, esto debido a que la dureza y la cohesión aumentan en la misma proporción. En este caso se produjo un cambio significativo a los 20 días.

CONCLUSIONES

La lipólisis y la proteólisis del queso de cabras criollas fueron moderadas, teniendo en cuenta el tiempo de maduración (30 días) evaluado, por lo que resultaría importante estudiar ambos fenómenos fisicoquímicos durante tiempos de maduración más extensos a fin de obtener mayor información respecto a los AGL responsables del flavor.

Los índices de maduración y los contenidos de AGL evolucionaron con el tiempo, siguiendo una cinética de primer orden.

Los quesos de cabra estudiados tienen mayor contenido en ácidos de cadena larga. Se observó disminución continua durante la maduración de los AGL de cadena corta. Los AGL de cadena media y larga muestran una disminución neta al cabo de 30 días de maduración.

A los 20 días de maduración se produjeron las principales modificaciones en el perfil de textura como resultado en su contenido de humedad y el cambio en su composición.

BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez S, Rodríguez V, Ruiz ME, Fresno M. 2007. Correlaciones de textura y color instrumental con la composición química de quesos de cabra canarios. *Archivos de Zootecnia*, 56 (1): 663-666.
- A.O.A.C. 1995. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist*.
- Atasoy AF, Türkoğlu H. 2009. Lipolysis in Urfa cheese produced from raw and pasteurized goats' and cows' milk with mesophilic or thermophilic cultures during ripening. *Food Chemistry*, 115(1): 71-78.
- Bernal SM, Palma S, Hynes ER, Perotti MC. 2001. Determinación de fracciones nitrogenadas para el seguimiento de la maduración de quesos. *Revista Argentina de Lactología*, 20: 10-18.
- Bontinis TG, Mallatou H, Pappa EC, Massouras T, Alichanidis E. 2012. Study of proteolysis, lipolysis and volatile profile of a traditional Greek goat cheese (Xinotyri) during ripening. *Small Ruminant Research*, 105(1): 193-201.
- Bourne MC. 2002. *Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement*. Academic Press, New York. pag 416.
- Bustamante MA, Virto M, Aramburu M, Barrón LJR, Pérez Elortondo FJ, Albisu M. 2003. Lamb rennet paste in ovine cheese (Idiazabal) manufacture. Proteolysis and relationship between analytical and sensory parameters. *International Dairy Journal*, 13(7): 547-557.
- Collins Y, McSweeney PL, Wilkinson MG. 2003. Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. *International Dairy Journal*, 13: 841-866.

- Curioni PMG, Bosset JO. 2002. Key odorants in various cheese types as determined by gas chromatography–olfactometry. *International Dairy Journal*, 12: 959–984.
- Chacón Villalobos AC, Pineda Castro ML. 2009. Características químicas, físicas y sensoriales de un queso de cabra adaptado del tipo "Crottin de Chavignol". *Agronomía mesoamericana*, 20(2): 297-309.
- Delgado FJ, González Crespo J, Ladero L, Cava R, Ramírez R. 2009. Free fatty acids and oxidative changes of a Spanish soft cheese (PDO 'Torta del Casar') during ripening. *International journal of food science & technology*, 44(9): 1721-1728.
- Delgado FJ, González Crespo J, Cava R, Ramírez R. 2011. Formation of the aroma of a raw goat milk cheese during maturation analysed by SPME–GC–MS. *Food Chemistry*, 129(3): 1156-1163.
- Delgado FJ, González Crespo J, Cava R, Ramírez R. 2012. Changes in microbiology, proteolysis, texture and sensory characteristics of raw goat milk cheeses treated by high-pressure at different stages of maturation. *LWT-Food Science and Technology*, 48(2): 268-275.
- Ferrandini E, López MB, Castillo M, Laencina J. 2011. Influence of an artisanal lamb rennet paste on proteolysis and textural properties of Murcia al Vino cheese. *Food chemistry*, 124(2): 583-588.
- Fresno M, Alvarez S. 2012. Chemical, textural and sensorial changes during the ripening of Majorero goat cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 65(3): 393-400.
- Küçüköner E, Haque ZU. 2006. Physicochemical properties of low-fat and full-fat Cheddar cheeses. *International journal of dairy technology*, 59(3), 166-170.
- Oliszewski R, Van Nieuwenhove C, González S, Chaia AP. 2008. Influence of autochthonous Argentine goat lactobacillus in ripening of slurry cheese models. *International journal of dairy technology*, 61(3): 256-264.
- Osorio JP, Ciro HJ, Mejía LG. 2004. Caracterización textural y fisicoquímica del queso EDAM. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*, 57(1): 2275-2286.
- Perotti MC, Bernal S, Wolf V, Zalazar CA. 2008. Perfil de ácidos grasos libres y características sensoriales de quesos reggianito elaborados con diferentes fermentos. *Grasas y Aceites*, 59(2): 152-159.
- Pinho O, Mendes E, Alves MM, Ferreira IM. 2004. Chemical, physical, and sensorial characteristics of "Terrincho" ewe cheese: changes during ripening and intravarietal comparison. *Journal of dairy science*, 87(2): 249-257.
- Pino A, Prados F, Galán E, Vivo R, Fernández Salguero J. 2009. Amino acids evolution during ripening of goats' milk cheese manufactured with different coagulants. *International Journal of Food Science and Technology*, 44: 2062–2069.
- Pintado AI, Pinho O, Ferreira MPL, Pintado MM, Gomes AM, Malcata FX. 2008. Microbiological, biochemical and biogenic amine profiles of Terrincho cheese manufactured in several dairy farm. *International Dairy Journal*, 18: 631–640.
- Polychroniadou A, Michaelidou A, Paschaloudis N. 1999. Effect of time, temperature and extraction method on the trichloroacetic acid-soluble nitrogen of cheese. *International Dairy Journal*, 9(8): 559-568.
- Prieto B, Franco I, Fresno JM, Prieto JG, Bernardo A, Carballo J. 2004. Effect of ripening time and type of rennet (farmhouse rennet from kid or commercial calf) on proteolysis during the

ripening of León cow milk cheese. *Food Chemistry*, 85(3): 389–398.

Ramonda MB. 2009. Desarrollo de un modelo basado en métodos estadísticos para la predicción del tiempo de maduración de Quesos Argentinos. Tesis de post grado de Doctor en Química. Universidad Nacional del Litoral. Disponible en: bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8180/tesis.pdf

Steffe JF. 1996. *Rheological methods in food process engineering*. 2ed. Freeman Press, East Lansing, Michigan, pag 418.

Tejada L, Abellán A, Cayuela JM, Martínez Cacha A, Fernández Salguero J. 2008. Proteolysis in goats' milk cheese made with calf rennet and plant coagulant. *International Dairy Journal*, 18(2): 139–146.

Theophilou P, Wilbey RA. 2007. Effects of fat on the properties of Halloumi cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 60(1):1-4.

Tobón JF, Velásquez HJ, Restrepo LG. 2004. Caracterización textural y fisicoquímica del queso Edam. *Revista Facultad Nacional de Agronomía-Medellín*, 57(1).

Van Hekken DL, Tunick MH, Park YW. 2002. Effect of frozen storage on the proteolysis and rheology of soft goat milk cheese. *Journal of Dairy Science*, 85(1): 254.

CAMBIOS MICROESTRUCTURALES DEL GRANO DE KIWICHA (*AMARANTHUS CAUDATUS*) SOMETIDO A DIFERENTES PROCESOS DE COCCIÓN

Burgos V.E.¹, Armada M.^{1,2,4}, Blanco S.^{1,3}

1: INIQUI-CONICET. Universidad Nacional de Salta.

2: Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de Salta.

3: Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de Salta.

4: Consejo de Investigación. Universidad Nacional de Salta (CIUNSa).

veritoburgos1@gmail.com

Resumen: El objetivo de este trabajo fue estudiar los cambios microestructurales del grano de kiwicha (*Amaranthus caudatus*) sometidos a diferentes procesos de cocción. Se trabajó con granos de kiwicha. Se ensayaron los siguientes procesos: presión en autoclave (KA), presión en olla eléctrica (KP), vapor en vaporera eléctrica (KV), inflado (KI) y laminado (KL). Las amilografías mostraron una pregelatinización del almidón, excepto en KV. Todos los almidones presentaron facilidad de cocción. El proceso de precocción mejoró la estabilidad, asentamiento y el índice de retrogradación, respecto al grano crudo, indicando una mayor estabilidad a procesos de calentamiento y enfriamiento y mayor rapidez de cocción del almidón. En la microestructura del grano crudo se observaron los gránulos de almidón poliédricos (1 µm). El KI presentó una matriz sólida formada por gránulos de almidón, proteínas y burbujas de aire; KA sufrió ruptura de tejidos. La morfología superficial de KP se mantuvo intacta. La estructura de KL fue de láminas delgadas homogéneas y en KV hubo poca modificación. Se concluye que

todos los métodos fueron eficientes, con modificación total de la estructura celular del grano, excepto en KV. Estos precocidos pueden utilizarse en la formulación de bebidas, postres instantáneos, cereales para desayuno o ingredientes de productos.

Palabras Clave: microestructura, kiwicha, procesos de cocción, parámetros amilográficos.

Abstract: The aim of this work was to study the microstructural changes of grain amaranth (*Amaranthus caudatus*) undergoing different cooking processes. We worked with grains amaranth. Pressure autoclave (KA), pressure cooker (KP), steam in electric steamer (KV), inflated (KI) and laminated (KL) were tested. The amylograms showed pregelatinize, except KV. All starches had ease of cooking. The precooking process improved breakdown, setback and retrogradation rate compared to raw grain, indicating greater stability to heating and cooling processes and faster cooking of the starch. In the microstructure of the raw grain starch granules polyhedral (1 micron) were observed. The KI provided a solid matrix of starch granules, protein and air bubbles; KA suffered rupture of the tissues. The surface morphology of KP remained intact. The structure of KL was homogeneous thin films and KV was little modification. It is concluded that all methods were effective, with complete change in the cellular structure of the grain, except KV. These precooked can used in the formulation of beverages, instant desserts, breakfast cereals or ingredients of products.

Keywords: microstructure, kiwicha, cooking processes, amylographic parameters.

INTRODUCCIÓN

El Amarantho es un grano originario de América Central y del Sur (Gamel *et al.* 2007). El género *Amaranthus* contiene más de 60 especies. Las más importantes de ellas son nativas de América Latina (Schoenlechner *et al.* 2008). Pero solamente tres especies son usadas para su producción: *Amaranthus cruentus* L., *Amaranthus caudatus* L. y *Amaranthus hypochondriacus* L. (Espitia-Rangel *et al.* 1994).

El *Amaranthus caudatus*, conocido como kiwicha, posee un importante potencial alimentario como fuente de nutrientes de alta calidad, presenta un 7% de grasas, un buen aporte de proteínas (14%), un 73% de hidratos de carbono y elevado contenido de lisina (5,5 g/16 g de N) en base seca, lo que determina su alta calidad nutricional (Burgos *et al.* 2013). Según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (1997), el contenido de almidón oscila entre 62%-69%, aporta un mayor contenido de proteína (11,1-19,4%) que otros granos de cereales, con valores superiores de lisina (51-67 mg/g de proteína) y niveles aceptables de triptófano y metionina que se presentan en bajas concentraciones en otros cereales y leguminosas (Mendoza 1987). Su proteína se encuentra principalmente en el embrión (65%), a diferencia de otros cereales como maíz, arroz y soja, donde el 80% de la proteína está en el endosperma (Bressani 1989). Los granos de kiwicha son una buena fuente de fibra dietética y minerales, contienen niveles altos de calcio, hierro, fósforo, magnesio, cobre y zinc, en comparación con otros granos de cereales; estos están contenidos en el germen de la semilla (Becker 1981). La fracción

de lípidos en los granos (5,4-9,1%), es similar a otros cereales proporcionando principalmente ácidos grasos no saturados, como el ácido linoleico (29,3%), siendo este el predominante (Lyon y Becker 1987). Su aceite contiene una cantidad importante de escualeno (8%) (Sun *et al.* 1997) que presenta efectos beneficiosos en la salud como agente anticancerígeno y efecto hipocolesterolémico (Escudero *et al.* 2006).

Las semillas de kiwicha son pequeñas y lenticulares con un diámetro de 0,7 a 3 micrones y un peso promedio de 0.6-1.2 mg (Teutonico y Knorr 1985). El grano de *Amaranthus caudatus* fue evaluado a través de SEM, el cual se observa su forma lenticular, aplanado en sus bordes externos, presentando un anillo irregular. El perispermo, constituido por células del parénquima, llenas de gránulos de almidón poliédricos, con un tamaño de 1,0 a 1,2 μm . (Burgos *et al.* 2011).

Resulta importante evaluar la microestructura de los alimentos, definida por Aguilera y Stanley (1999) como la disposición espacial de elementos que componen el mismo y sus interacciones en niveles inferiores a 100 micras. La microestructura típica en los alimentos son: las paredes celulares, gránulos de almidón, proteínas, agua y gotitas de aceite, los cristales de grasa, etc. Uno de los métodos para determinar la microestructura de una matriz alimentaria, es la microscopía electrónica de barrido (SEM). Ésta técnica proporciona de manera cualitativa, la información sobre el estado físico del sistema alimentario estudiado (Aguilera 2006).

El grano de kiwicha se procesa de diversas maneras para su consumo, el más popular es como grano expandido. Otros procesos incluyen la cocción en agua, extrusión, el tostado o laminado. La aplicación más importante de estos productos, es como cereal para desayuno, listo para consumir o como

ingrediente en la elaboración de barras de cereales y productos instantáneos (Bressani *et al.* 1993).

El objetivo de este estudio fue estudiar los cambios microestructurales del grano de kiwicha (*Amaranthus caudatus*) sometidos a diferentes procesos de cocción.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia Prima

Se trabajó con una única variedad de semillas de kiwicha (*Amaranthus caudatus*), cosecha 2013, procedente de la localidad de Cachi, de la provincia de Salta.

Se ensayaron los siguientes procesos de cocción:

Presión en autoclave

Se utilizó una autoclave de laboratorio (Arcano Model LS-B75L) con una presión de 120 Mpa. La relación peso/volumen fue de 1:2. La cocción fue de 4 minutos. Luego los granos de kiwicha fueron secados en estufa de aire a 50°C.

Presión en olla eléctrica

Se utilizó una olla eléctrica marca Oster (Modelo 4801). A la misma se le colocó una malla que contenía los granos de kiwicha de manera tal que su cocción sea al vapor y presión. La cocción fue de 12 minutos. Luego los granos de kiwicha fueron secados en estufa de aire a 50°C.

Vapor en vaporera eléctrica

Se empleó una vaporera marca Philips (Modelo HD9120/55). El tiempo de cocción fue de 50 minutos. Luego los granos de kiwicha fueron secados en estufa de aire a 50°C.

Proceso de inflado

Se utilizó una olla de acero inoxidable para hacer pochoclos, colocada sobre hornalla a fuego máximo. La olla consta de una tapa con hélice que permite mezclar los mismos, a medida que se van inflando. El tiempo estimado fue de 30 segundos, tiempo máximo alcanzado para inflar, empleando una temperatura de $160 \pm 2^\circ\text{C}$. Para medir la misma se utilizó un termómetro infrarrojo marca CEM (-50°C a 500°C). La humedad inicial de los granos de kiwicha antes del proceso de expansión, fue de 7,20%.

Proceso de laminado

Previo al proceso de laminación, se procedió a la humectación de los granos enteros de kiwicha con agua destilada, en una relación masa/volumen de: 1:0,8. La humedad inicial fue de 18%. La temperatura de los rodillos fue de 100°C , con un tiempo de residencia de 11 segundos y 5 rpm.

Propiedades de la pasta

El comportamiento de la pasta fue determinada en el grano entero de kiwicha, previamente molido y en el producto inflado comercial y la kiwicha inflada, utilizando suspensiones al 7% (ajustando la humedad al 14%). Para ello se determinó la humedad a través del equipo Ultra X. Se utilizó un viscoamilógrafo Brabender. Los parámetros amilográficos determinados fueron:

B: Viscosidad máxima

C: Viscosidad a 90°C

D: Viscosidad a 90°C durante 20 min

E: Viscosidad a 50°C

F: Viscosidad a 50°C durante 20 min

Fragilidad: B-C

Estabilidad: B-D

Asentamiento: E-B
Consistencia o IR (índice de retrogradación): E-D
Estabilidad al enfriar: E-F
Facilidad de cocción: C-B

Microestructura

La microestructura se determinó a través de Microscopio Electrónico de Barrido JEOL JSM 6480 LV.

Análisis Estadístico

Para el análisis de datos, se utilizó análisis de ANOVA. Para la comparación de medias y establecer diferencias significativas ($p < 0,05$), se empleó el test de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Propiedades de la pasta

Los valores de humedad para el grano crudo, kiwicha inflada, laminado, kiwicha a vapor y cocción en autoclave respectivamente, fueron: 7,20%, 2,35%, 9,10%, 6,6%, 5,4% y 11,5%

Las propiedades de la pasta reflejan los cambios en las viscosidades de las harinas, en exceso de agua, bajo condiciones de agitación constante. Durante el calentamiento, el aumento de la viscosidad es debido al hinchamiento de los gránulos, provocando un aumento de su tamaño, debido a la pérdida de cristalinidad y absorción de agua (Bao y Bergman 2004).

Los parámetros amilográficos obtenidos (**Figura 1**) en los productos estudiados, proporcionan información de la precocción del almidón, lo cual ocasiona un aumento de la solubilización en agua fría, aumentando el poder de retención de agua y facilitando la hinchazón y gelatinización de los gránulos de almidón, con una viscosidad máxima comprendida entre 60-240 UB. El grano de crudo de kiwicha presentó 275 UB.

Se observa que el tratamiento térmico aplicado al grano de kiwicha, provoca un descenso de las viscosidades, mediante el cual se produce ruptura de los gránulos, hidrólisis parcial y disolución más o menos completa de las moléculas constituyentes (Colonna *et al.* 1987; Pomeranz 1991; Cook 1996). La kiwicha sometida a vapor presentó parámetros amilográficos similares al grano crudo, por lo tanto, no se logró una completa cocción.

Comparando la máxima viscosidad alcanzada por cada producto y la viscosidad final a 90°C, se observa que los productos precocidos no presentan fragilidad, es decir, el almidón es muy estable al movimiento de cizalla. Este proceso mejora la estabilidad y asentamiento, considerado este último por algunos investigadores como un indicador de la tendencia de retrogradación del almidón (Dengate 1989; Karim *et al.* 2000), y el índice de retrogradación, respecto del grano crudo, indicando una mayor estabilidad a los procesos de calentamiento y enfriamiento, una mayor rapidez de la cocción por el almidón presente, ya que tienen la propiedad de hinchar en frío. La kiwicha cocinada a olla a presión y autoclave, presenta los valores más bajos de asentamiento, consistencia y estabilidad al enfriamiento.

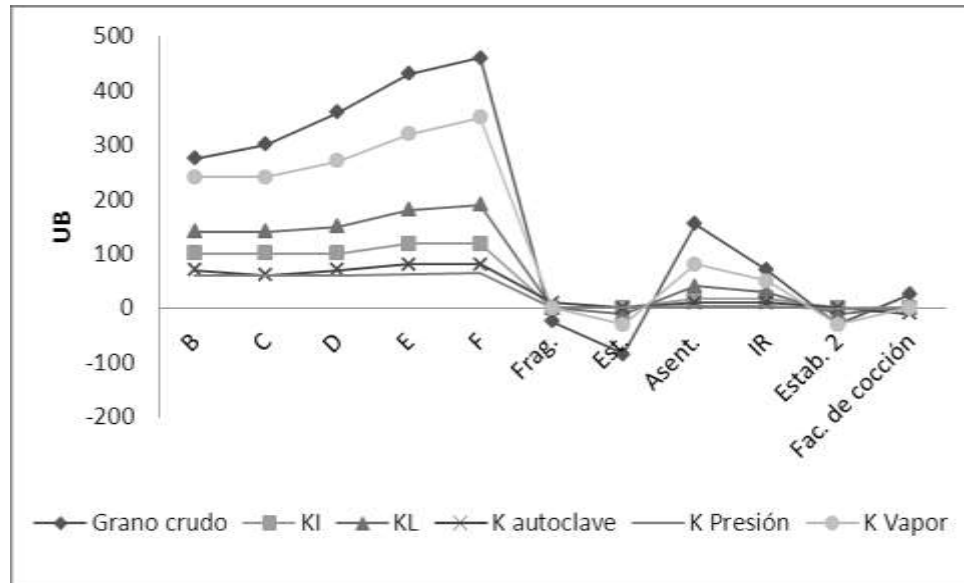


Figura 1: Parámetros amilográficos del grano crudo y cocido de kiwicha, sometido a diferentes procesos de cocción

Dónde, B: viscosidad máxima, C: viscosidad a 90°C, D: viscosidad a 90°C por 20 min, E: viscosidad a 50°C, F: viscosidad a 50°C por 20 min, Frag.: fragilidad, Est.: estabilidad, asent.: asentamiento, IR: índice de retrogradación, estabilidad 2: estabilidad al enfriar, fac. de cocción: facilidad de cocción.

Microestructura

Las **Figura 2** muestra las microfotografías (SEM) de granos de kiwicha crudo y sometido a diferentes procesos de cocción.

En la primera columna, se aprecian las distintas partes estructurales del grano de kiwicha. El mismo tiene un diámetro

de 1,34 mm x 1,22 mm. Se observa que el endospermo está formado por un anillo que rodea el perispermo (1,07 mm x 903 µm) y que este a su vez contiene los amiloplastos y gránulos de almidón. El embrión es de forma circular con la punta de la raíz tocando el extremo de los cotiledones y mide 204 µm. Las células del embrión varían en tamaño y forma y aparecen heterogéneas en el contenido celular. El centro de la semilla se denomina perispermo y es el tejido principal de almacenamiento, constituido por células del parénquima, llenas de gránulos de almidón poliédricos de 1 µm (Marcone 2001).

Se observa que los granos sometidos a cocción autoclave, debido a la alta presión, su morfología y matriz alimentaria sufrieron modificaciones totales, con la presencia de gránulos de almidón gelatinizados. Según Liu *et al.* (2009), la presión aumenta el proceso de difusión de agua en los gránulos de almidón y eso conduce a romper la estructura cristalina.

Los gránulos de almidón de la kiwicha a presión, conservan su forma, probablemente no gelatinizaron dada la alta presión y la poca disponibilidad de agua a la que fueron sometidos.

La kiwicha cocinada a vapor presenta el almidón parcialmente modificado en su forma. Se observa en algunas zonas, la presencia de cuerpos poliédricos, similar a los gránulos de almidón nativo. Lo cual coincide con los resultados de los parámetros amilográficos estudiados.

En la quinta columna se muestra la estructura de grano después del proceso de inflado. La aplicación de calor provoca la acumulación de vapor en el interior de la semilla y aumenta notablemente la presión hasta el límite del punto de ruptura del pericarpio, por lo cual, el grano se expande. Es posible observar una matriz sólida constituida por una estructura formada a partir de la unión de los gránulos de almidón y proteínas, y una fase

dispersa de burbujas de aire. Esto fue observado por otros investigadores donde destacaron la importancia del endospermo del grano de amaranto, formando un anillo que rodea al perispermo que contiene los amiloplastos y gránulos de almidón, donde la amilopectina que está conformada como anillos en forma de espiral, le confiere una alta capacidad del sistema para retener moléculas de agua y la expansión de las cadenas de amilopectina provocado un aumento de volumen, característica de la operación de inflado (Castro-Giráldez *et al.* 2012). En la microfotografía estudiada en este estudio, se observa que los gránulos de almidón se encuentran totalmente modificados en su forma, pero mantienen su individualidad, lo que indicaría un proceso de dextrinización, por la alta temperatura, baja presencia de agua y sin alta presión.

El proceso de laminado comprimió la muestra, produciendo la compactación de todos sus componentes. La estructura celular y los gránulos de almidón se encuentran completamente modificados debido a la fuerza de aplastamiento otorgada por los rodillos del laminador durante su proceso de elaboración y la temperatura alcanzada en el mismo permite que el almidón gelatinice, formando una estructura de film. Durante la cocción el agua ingresa a los gránulos de almidón, estos gelatinizan, como se confirmó por amilografía y pierden la estructura cristalina. Esto modifica su estructura interna destruyendo interfases y generando una matriz más homogénea. Se observa parte de las células que contienen conglomerados de gránulos de almidón densamente empaquetados.

Estos resultados coinciden con las observaciones de Batterman-Azcona *et al.* (1999) que establecieron que durante la cocción, los gránulos de almidón y los cuerpos proteicos se hinchan pero conservan su identidad. Además estos autores observaron la

disrupción de los cuerpos proteicos durante el laminado con liberación parcial de proteínas y formación de puentes disulfuro entre estas.

Todos los tratamientos de precocción modificaron la estructura celular, salvo la kiwicha cocinada a vapor y presión, que conservan algo de la estructura celular del grano crudo, en el resto de los productos, la modificación es total, lo cual coincide con los parámetros amilográficos.

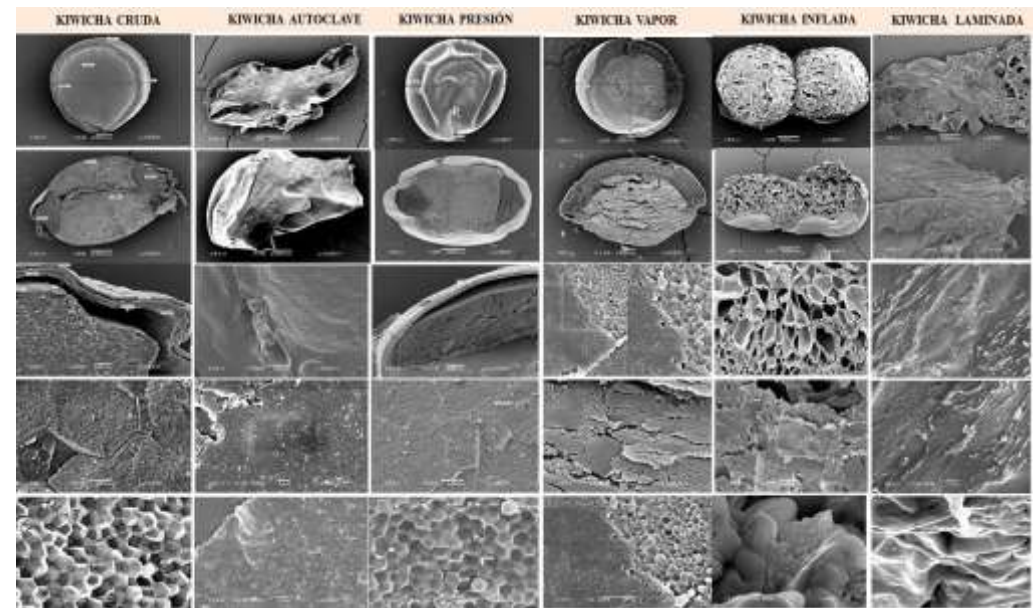


Figura 2: Microfotografías del grano crudo de kiwicha y sometidos a diferentes procesos de cocción

CONCLUSIONES

El proceso de cocción mejoró la estabilidad, asentamiento y el índice de retrogradación, respecto del grano crudo, por lo que ocasionó una óptima pregelatinización del almidón presente en los granos de kiwicha, confiriéndole características funcionales importantes para el desarrollo de productos.

Todos los tratamientos modificaron la estructura celular, salvo la kiwicha cocinada a vapor y presión, que conservan algo de la estructura celular del grano crudo.

En el resto de los productos, la modificación es total, lo cual coincide con los parámetros amilográficos.

La kiwicha a vapor, necesitaría mayor tiempo de cocción, con lo cual sería importante evaluar su costo-beneficio.

A través de la utilización del microscopio electrónico de barrido, se obtuvo de forma precisa la microestructura de la matriz alimentaria estudiada.

Estos precocidos pueden utilizarse en la formulación de bebidas, postres instantáneos, cereales para desayuno o ingredientes de productos.

BIBLIOGRAFÍA

Aguilera JM. 2006. Food products engineering building the right structures. *Journal Science Food Agronomy*, 86: 1147-55.

Aguilera JM, Stanley DW. 1999. *Microstructural principles of food processing and engineering*. 2nd ed. Gaithersburg, Md.: Aspen Publishers Inc.

Bao J, Bergman CJ. 2004. The functionality of rice starch. In A.C. Eliasson (Ed.). *Starch in food*, 259-294.

Batterman-Azcona SJ, Lawton JW, Hamer RJ. 1999. Effect of specific mechanical energy on protein bodies and a-zeins in corn flour extrudates. *Cereal Chemistry*, 76: 316-320.

Becker R, Wheeler EL, Lorenz K, Stafford AE, Grosjean OK, Betschart AA. 1981. A composition study of amaranth grain. *Journal of Food Science*, 46: 1175-1180.

Bressani R. 1989. The proteins of grain amaranth. *Foods Reviews International*, 51:1338.

Bressani R, De Martell ECM, De Godinez CM. 1993. Protein quality evaluation of amaranth in adult humans. *Plant Foods for Human Nutrition*, 43:123-43.

Burgos VE, Jiménez PL, Armada M. 2011. Calidad y microestructura de semillas de kiwicha. *Revista Investigaciones en Facultades de Ingeniería del NOA. VIII Jornadas de Ciencia y Tecnología de Facultades de Ingeniería del NOA*. Editores Juárez Tapia N, Savio M, Cano J. Tomo II. Pág. 1231-1236.

Burgos VE, Armada M, Lescano GR. 2013. Calidad nutricional proteica de laminados de kiwicha, arroz y sémola de maíz. *XIII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. Libro de trabajos completos.

- Castro-Giráldez M, Fito PJ, Prieto JM, Andrés A, Fito P. 2012. Study of the puffing process of amaranth seeds by dielectric spectroscopy. *Journal of Food Engineering*, 110: 298–304.
- Colonna P, Buelon A, Mercier C. 1987. Physically modified starch in: *Starch, properties and potential* (T. Galliard, ed.). Society of Chemical Industry, 79-114.
- Cook PD. 1996. Functional properties of starch, methods and applications. *Agro-Food-Industries-Hi-Tech.*, 18-22.
- Dengate HN. 1984. Swelling, pasting and gelling of wheat starch. In *Advances in Cereal Science and Technology*. Pomeranz, Y. (Editor). St. Paul, Minnesota: AACC, pag: 49-82.
- Escudero NL., Zirulnik F, Gomez NN, Mucciarelli SI, Giménez MS. 2006. Influence of a protein concentrate from *Amaranthus cruentus* seeds on lipid metabolism. *Experimental Biology and Medicine*, 231:50–59.
- Espitia-Rangel E. 1994. Breeding of grain amaranth. In: Paredes-López, O. (Ed.): *Amaranth Biology, Chemistry and Technology*. CRC Press, Boca Raton FL, USA, pág: 155–184.
- Gamel TH, Mesallam AS, Damir AA, Shekib LA, Linszen JP. 2007. Characterization of amaranth seeds oils. *Journal of Food Lipids*, 14(3): 323–334.
- Karim AA, Norziah MH, Seow CC. 2000. Methods for the study of starch retrogradation. *Food Chemistry*, 71: 9-36.
- Liu HS, Yu L, Dean K, Simon G, Petinakis E, Chen L. 2009. Starch gelatinization under pressure studied by high pressure DSC. *Carbohydrate polymers*, 75: 395-400.
- Lyon CK, Becker R. 1987. Extraction and refining of oil from amaranth seed. *Journal of American Oil Chemists Society*, 64: 233–236.
- Marcone M F. 2001. Starch properties of *Amaranthus pumilus* (seabeach amaranth): A threatened plant species with potential benefits for the breeding/amelioration of present *Amaranthus* cultivars. *Food Chemistry*, 73: 61–66.
- Mendoza C, Bressani R. 1987. Nutritional and functional characteristics of extrusion cooked amaranth flour. *Cereal Chemistry*, 64:218–223.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 1997. Valor Nutritivo y Usos en la Alimentación Humana de algunos cultivos autóctonos subexplotados de Mesoamérica. Pág. 109.
- Pomeranz Y. 1991. Carbohydrates: Starch in, *Functional Properties in Foods Components*. Ed Y. Pomeranz, Academic Press, Inc, New York.
- Schoenlechner R, Siebenhandl S, Berghofer E. 2008. Pseudocereals. In: Arendt, E., Bello, F.D. (eds.): *Gluten-free cereal products and beverages*. Academic Press, U.S.A, pag: 149–176.
- Sun HD, Wiesenborn K, Tostenson J, Gillespie, Rayas Duarte P. 1997. Fractionation of squalene from amaranth seed oil. *Journal of American Oil Chemists Society*, 74: 413–418.
- Teutonico RA, Knorr D. 1985. Amaranth: Composition, properties and applications of a rediscovered food crop. *Food Technology*, 39: 49–60.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Mgs. Juan Robin, por la colaboración en la utilización del laminador y elaboración del producto laminado de kiwicha.

PARÁMETROS TEXTURALES Y EVALUACIÓN SENSORIAL DE PRODUCTOS PRECOCIDOS DE KIWICHA (*AMARANTHUS CAUDATUS*)

Burgos V.E.¹, Armada M.^{1,2,3}, Jiménez P.L.^{1,2,3}

1: INIQUI-CONICET. Universidad Nacional de Salta.

2: Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de Salta.

3: Consejo de Investigación. Universidad Nacional de Salta (CIUNSa).

veritoburgos1@gmail.com

Resumen: El objetivo de este trabajo fue desarrollar productos precocidos de kiwicha y estudiar sus parámetros texturales y aceptabilidad. Se trabajó con granos de kiwicha (*Amaranthus caudatus*). Se utilizó como patrón, amaranto inflado comercial (AI). Se formularon kiwicha inflada (KI) y laminada (KL). La humedad osciló entre un 4,30% y 9,47%. La KL presentó mayor luminosidad. Los parámetros a^* y b^* de las muestras estudiadas, fueron similares. La dureza fue diferente en todos los productos. El producto de mayor adhesividad fue AI. La KL presentó menor cohesividad ($p < 0.05$). La gomosidad fue diferente para KI, observándose diferencias significativas. La KI presentó una mayor fuerza de fractura y mayor número de fracturas, asociado a la crocancia, con menor adhesividad. El 84% de los consumidores prefirieron KI, con un mayor puntaje sensorial "me gusta" (81%) y mayor aceptación de compra (39%) y consumo (44%). Presentaron indiferencia para KL y AI. El 9%-16% lo comprarían y el 14%-22% lo consumirían. Se concluye que la KI puede ser consumida como cereal para desayuno o ingrediente en la elaboración de barritas de cereales u otros productos y la KL,

incorporarla como ingrediente de otras formulaciones, productos instantáneos como sopas, postres, bebidas, para mejorar sus características sensoriales.

Palabras Clave: parámetros texturales, evaluación sensorial, productos precocidos, kiwicha.

Abstract: The objective of this study was develop precooked food of kiwicha and study the textural parameters and acceptability. We worked with grains of kiwicha (*Amaranthus caudatus*). It was used as standard, comercial puffed amaranth (AI). Puffed (KI) and laminate kiwicha (KL) were made. The moisture was between 4,30% and 9,47%. The KL showed higher luminosity. The parameters a^* and b^* of the samples studied were similar. The hardness was different in all products. The product with higher adhesiveness was AI. The KL had lower cohesiveness ($p < 0,05$). The gumminess was different for KI, with a significant difference. The KI showed higher fracture strength and more fractures, crunchiness associated with lower adhesiveness. 84% of consumers preferred KI, with higher sensory score "like" (81%) and greater acceptance of purchase (39%) and consumption (44%). They showed indifference to KL and AI. 9% -16% of the consumers would buy and 14%-22% would consume. We conclude that KI can be consumed as breakfast cereal or ingredient in the production of cereal bars or other products and KL, incorporating it as an ingredient in other formulations, products such as instant soups, desserts, drinks, to improve their sensory characteristics.

Keywords: textural parameters, sensory evaluation, precooked food, kiwicha.

INTRODUCCIÓN

El Amaranto es un grano originario de América Central y del Sur (Gamel *et al.* 2007). El género *Amaranthus* contiene más de 60 especies. Las más importantes de ellas son nativas de América Latina (Schoenlechner *et al.* 2008). Pero solamente tres especies son usadas para su producción: *Amaranthus cruentus* L., *Amaranthus caudatus* L. y *Amaranthus hypochondriacus* L. (Espitia-Rangel *et al.* 1994). El *Amaranthus caudatus*, conocido como kiwicha, posee un importante potencial alimentario como fuente de nutrientes de alta calidad, presenta un 7 g % de grasas, un buen aporte de proteínas (14 g %), un 73 g% de hidratos de carbono y elevado contenido de lisina (5,5 g/16 g de N) en base seca, lo que determina su alta calidad nutricional (Burgos *et al.* 2013). El grano se procesa de diversas maneras para su consumo, el más popular es como grano expandido. Otros procesos incluyen la cocción en agua, extrusión, el tostado o laminado. La aplicación más importante de estos productos, es como cereal para desayuno, listo para consumir o como ingrediente en la elaboración de barras de cereales y productos instantáneos (Bressani *et al.* 1993).

El proceso de inflado de cereales consiste en la aplicación rápida de calor, para que el agua se vaporice dentro del grano, alcanzando presiones internas muy altas (Song y Eckhoff 1994). En esta etapa, el tejido externo se rompe y el grano se expande, de esta manera, se forma la expansión del endospermo unido a fragmentos de pericarpio y el embrión (Hoseney *et al.* 1983). El parámetro de calidad más importante del producto inflado es la expansión de volumen que está influenciado por la composición

del grano crudo y de las condiciones de procesamiento (Chen y Yeh 2001). Por otra parte, las variables de proceso son tamaño del grano, espesor del pericarpio, temperatura, presión, actividad y contenido de agua (14%-16%) (Gökmen 2004).

El proceso de laminación consiste en la aplicación de calor a baja presión y el aplastamiento en finas láminas, brindando las siguientes ventajas: eliminar bacterias, evitar el desarrollo de toxinas que pueden aparecer en condiciones de almacenamiento prolongado, inactivar factores antinutricionales, modificar el aspecto físico de los alimentos, aumentar el volumen, intensificar el grado de imbibición de las partículas e incrementar la digestibilidad. Al producto final obtenido por laminación se lo denomina copos u hojuelas. Se obtiene así un producto con una humedad del 8 al 10 % (Colonna *et al.* 1987, Colonna *et al.* 1983). Las propiedades mecánicas de estos productos están relacionadas con la calidad y la preferencia del consumidor. En los alimentos de pequeño tamaño, es importante estudiar estas propiedades en una porción de muestra a granel *in bulk* debido a que los resultados son más reproducibles que con una sola pieza. Además estos alimentos se empacan, transportan y consumen *in bulk*, por lo tanto las propiedades del material medidas de esta manera están más relacionadas con la percepción del consumidor (Gondek y Lewicki 2006).

La evaluación sensorial de los alimentos, constituye hoy en día un pilar fundamental para el diseño y desarrollo de nuevos productos alimenticios. Permite determinar en forma más científica y objetiva la evaluación de sus características, que tanto influyen en el consumidor en la aceptabilidad de los alimentos. De este modo, la calificación final de un producto alimenticio comprende, además de la determinación de su valor nutritivo y calórico, también los resultados de su Análisis Sensorial, como

complemento necesario para su evaluación integral (Witing de Penna 1981). Si bien el análisis sensorial puede dar una completa descripción de la textura es de interés el desarrollo de técnicas instrumentales para su estudio (Roudaut *et al.* 2002). Los parámetros relacionados con la crocancia, la crujencia y dureza son los más estudiados y con frecuencia se han encontrado correlaciones entre la percepción sensorial y el análisis instrumental de la textura (Anton y Luciano 2007). Por ello el objetivo de este trabajo fue desarrollar productos precocidos de kiwicha y estudiar sus parámetros texturales, color y su aceptabilidad sensorial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia Prima

Se trabajó con una única variedad de semillas de kiwicha (*Amaranthus caudatus*), cosecha 2013, procedente de la localidad de Cachi, de la provincia de Salta.

Se utilizó como patrón de referencia, amaranto inflado que se comercializa en una dietética de Salta Capital.

Proceso de inflado

Previo limpieza de los granos de kiwicha, se procedió a realizar el producto inflado. Se utilizó una olla de acero inoxidable para hacer pochoclos, colocada sobre hornalla a fuego máximo. La olla consta de una tapa con hélice que permite mezclar los mismos, a medida que se van inflando. El tiempo estimado fue de 30 segundos, tiempo máximo alcanzado para inflar, empleando una temperatura de $160^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Para medir la

misma se utilizó un termómetro infrarrojo marca CEM (-50°C a 500°C). La humedad inicial de los granos de kiwicha antes del proceso de expansión, fue de 7,20 %.

Proceso de laminado

Previo al proceso de laminación, se procedió a la humectación de los granos enteros de kiwicha y arroz con agua destilada, en una relación masa/volumen de: 1:0,8. La humedad inicial fue de 18 %. La temperatura de los rodillos fue de 100°C , con un tiempo de residencia de 11 segundos y 5 rpm.

Determinación de humedad

La humedad se determinó según la técnica oficial de la A.O.A.C (1996).

Determinación de color

Se determinó en colorímetro de reflectancia (Color Tec PCM-Cole Parmer), utilizando los parámetros CIELAB (L^* , a^* , b^*).

Textura

Se utilizó un texturómetro Brookfield CNS Farnell, QTS. Se ensayó un Test TPA (Texture Profile Analysis) con las siguientes condiciones: Total de ciclo: 2, Trigger: 5 g., Velocidad de ensayo: 15 mm/min, Target value: 40 mm. Los parámetros texturales evaluados fueron: fuerza de fractura, dureza, gomosidad, adhesividad, cohesividad y número de fracturas.

Prueba Sensorial

Se realizó en el Instituto de Investigación Sensorial de Alimentos (IISA), Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Salta.

La evaluación sensorial y ensayo de preferencia, se desarrolló en 60 consumidores, varones y mujeres, entre 18 a 62 años, utilizando una escala Hedónica de 7 puntos. En el cuestionario de evaluación se realizaron preguntas de si comprarían el producto y si lo consumirían en caso de tenerlo en su casa. También se les pidió que opinen respecto del color, olor, sabor y textura de los mismos.

Análisis Estadístico

Para el análisis de datos, se utilizó análisis de ANOVA. Para la comparación de medias y establecer diferencias significativas ($p < 0,05$), se empleó el test de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Humedad y color

El agua es un importante constituyente de los alimentos el cual afecta su calidad, estabilidad y propiedades fisicoquímicas, además de sus propiedades reológicas. Esto último es especialmente importante en alimentos de baja humedad con estructura celular o porosa. Estos alimentos están caracterizados por su textura crocante la cual es relevante para su aceptabilidad sensorial. Cuando estos productos absorben agua se produce una pérdida de crocancia y un ablandamiento de los mismos

afectando sus características sensoriales. Sin embargo varios autores han descripto un aumento en la rigidez en alimentos de baja humedad luego de aumentos moderados del contenido de agua (Halek *et al* 1989, Shogren *et al* 1992, Fontanet *et al* 1997, Gondek y Lewicki 2006, Marzec y Lewicki 2006, Pittia y Sacchetti 2008).

En la **Tabla 1** se describen los resultados obtenidos de humedad y color de los productos precocidos. En la kiwicha inflada, el contenido de humedad se redujo en un 40%, por el efecto de la expansión, desde un 7,20 % a 4,30 %, debido a la elevada presión y temperatura (160 °C) a la que se realiza el proceso, permitiendo primero el tostado y luego el inflado del grano. Lo mismo ocurrió, en el producto laminado, que su humedad se redujo en un 50%.

La KL y AI, presentaron un porcentaje de humedad similar, observándose diferencia significativa ($p < 0,05$) con KI.

El color es una importante cualidad de los alimentos y su percepción aporta datos sobre su calidad y estado de conservación, además es el primer parámetro evaluado por el consumidor y es crítico en la aceptación o rechazo de los productos (León *et al* 2006).

Tabla 1: Humedad (%) y color de productos precocidos de kiwicha

Parámetros		Inflado	Laminado	Comercial
Humedad		4,30 ± 0,1 ^a	9,03 ± 0,15 ^b	9,47 ± 0,15 ^b
Color	L*	61,51 ± 1,26 ^a	67,56 ± 0,43 ^b	66,55 ± 0,57 ^b
	a*	13,20 ± 1,69 ^a	9,05 ± 0,07 ^a	11,13 ± 0,63 ^a
	b*	21,93 ± 0,84 ^a	21,70 ± 2,32 ^a	27,27 ± 1,11 ^a

Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Las características de color determinadas (**Tabla 1**) indicaron que la kiwicha laminada presentó un mayor valor de L^* (escala negro-blanco), observándose diferencia significativa respecto a la kiwicha inflada, con menor valor de a^* (escala rojo-verde) y b^* (escala amarillo-azul), presentando una disminución de color amarillo, lo que le otorgó una menor cremosidad, que la observada en el producto comercial. Respecto a KI, presentó menor luminosidad respecto a AI, mostrando una diferencia significativa, con mayores valores de a^* , lo cual le confiere una mayor opacidad, probablemente por los fenómenos de tostación involucrados en la expansión, con la transformación de almidones en dextrinas. Zapotoczny *et al.* (2006) evaluaron el color en amaranto inflado, como indicador de calidad, reportando mayores valores de L (76,5) y menores valores de a^* (2,46) y b^* (13,8), respecto a la muestra de kiwicha inflada en este estudio.

Textura

En las propiedades texturales, influye la estructura propia del alimento. El estado físico del alimento afecta en forma importante a los alimentos de baja humedad (Roos 1995).

La adhesividad, trabajo necesario para superar las fuerzas de atracción entre la superficie del alimento y la superficie de otros materiales con los que éste entra en contacto (lengua, dientes, paladar), el producto de mayor adhesividad fue el producto comercial ($p < 0,05$), esto se correlaciona con su mayor humedad. El de menor, fue la kiwicha inflada, observándose diferencias estadísticamente significativas. La kiwicha inflada presentó una

mayor fuerza de fractura y un mayor número de fracturas, asociado a la crocancia, con menor adhesividad (**Tabla 2**).

El producto comercial presentó mayor fuerza de fractura, mayor adhesividad, menor crocancia respecto a KI y valor similar de cohesividad.

La KL presentó menor fuerza de fractura, mayor dureza, fuerza necesaria para lograr una deformación dada, menor gomosidad, cohesividad y crocancia.

El resultado obtenido de cohesividad es un indicador de la viscoelasticidad del alimento. Un valor próximo a 1 indica total elasticidad y un valor próximo a cero indica que la muestra no se recuperó en absoluto, como es el caso de la kiwicha laminada, que presentó menor cohesividad ($p < 0,05$).

La gomosidad simula la energía requerida para desintegrar un alimento semi-sólido. El alimento es colocado en la boca y movido entre la lengua y el paladar, el grado de gomosidad se evalúa por la cantidad de movimiento requerido antes de que el alimento se desintegre. En este estudio la gomosidad fue diferente para la kiwicha inflada, observándose diferencias significativas (**Tabla 2**).

Tabla 2: Parámetros texturales en productos precocidos de kiwicha

Parámetros	Inflado	Laminado	Comercial
Fuerza de fractura (g)	74,66 ± 2,88 ^a	6,66 ± 1,15 ^b	82,00 ± 5,12 ^c
Dureza (g)	386 ± 8,71 ^a	649,67 ± 22,85 ^b	273,67 ± 43,52 ^c
Gomosidad	225,20 ± 15,16 ^b	181,17 ± 21,68 ^a	203,72 ± 13,51 ^{ab}
Adhesividad	-0,41 ± 0,05 ^b	-1,04 ± 0,08 ^b	-4,99 ± 0,91 ^a
Cohesividad	0,78 ± 0,03 ^b	0,28 ± 0,02 ^a	0,74 ± 0,01 ^b
Fractura	11,67 ± 0,57 ^a	3,66 ± 0,70 ^b	6,66 ± 0,94 ^c

Prueba Sensorial

En la **Figura 1**, se observa el porcentaje de aceptabilidad sensorial de los productos precocidos. El 81% de los consumidores, les gusto la kiwicha inflada. La mayoría de los consumidores lo definieron como un producto de sabor muy agradable y rico, recuerda al maíz inflado, con olor a cereal tostado, textura crocante, suave, esponjoso, aireado y de fácil disgregación en la boca

El producto comercial, presentó mayor indiferencia (52%). La mayoría de los consumidores lo definieron como un producto de sabor amargo después de masticar y tragar, olor a guardado, desagradable y de textura poco crujiente, de difícil disgregación en la boca y pegajosidad en los dientes y el paladar. Pero la mayoría coincidió en que presenta un color agradable.

Respecto al producto laminado, al 36% de los consumidores les disgustó, un 34% le fue indiferente y un 29% le gustó. Los consumidores lo definieron como un producto de color opaco, textura dura, áspero, que se pega en la boca, similar a la avena, de fácil masticabilidad, sabor a vegetal hervido, color y olor agradable.

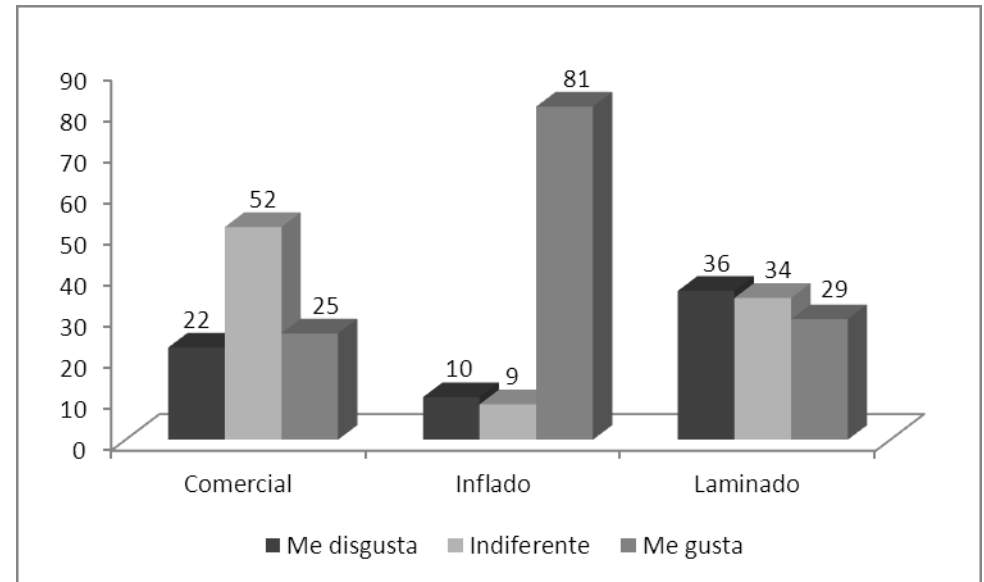


Figura 1: Porcentaje de Aceptabilidad Sensorial de productos precocidos de kiwicha

En la **Tabla 3** se observa el porcentaje de compra, de consumo si tuvieran el producto en su casa y preferencia de los mismos. La mayor aceptación de compra y consumo, es para la kiwicha inflada. El 84,48% de los consumidores la prefieren, por su mejor olor, sabor y textura, frente al producto comercial que no lo compra (33,62%) y el 27,59% de los degustadores, no la consume si la tuviera en su casa. Solo lo prefirieron un 6,90%. Respecto a la kiwicha laminada, el 40,52% y el 36,21%, no la compra ni la consume respectivamente, debido a que presenta poco sabor y textura no agradable al consumidor.

Tabla 3: Porcentaje de compra, consumo y preferencia de productos precocidos de kiwicha

Productos	Compra		Consume		Preferencia
	SI	NO	SI	NO	
Kiwicha Inflada	38,79	11,21	43,96	6,03	84,48
Kiwicha Laminada	9,48	40,52	13,79	36,21	8,62
Producto Comercial	16,38	33,62	22,41	27,59	6,90

CONCLUSIONES

En la kiwicha inflada, el contenido de humedad se redujo en un 40%, debido a la elevada presión y temperatura a la que se realiza el proceso, permitiendo el tostado y el inflado del grano. Lo mismo ocurrió, en el producto laminado, que su humedad se redujo en un 50%.

El color permitió predecir una cualidad importante de los productos y su percepción sobre su calidad y estado de conservación.

Los parámetros texturales analizados instrumentalmente, se relacionaron con la percepción sensorial de los consumidores.

La kiwicha inflada presentó mejores parámetros texturales y aceptabilidad sensorial, respecto al producto inflado comercial, presentando mayor crocancia. Este producto inflado elaborado, puede ser consumida como cereal para desayuno o ingrediente en la elaboración de barras de cereales u otros productos.

El producto comercial debería tener mejores condiciones de almacenamiento, ya que la mayoría de los consumidores detectaron olor y sabor ha guardado, por ello su rechazo de consumo y compra.

La kiwicha laminada podría ser incorporada como ingrediente de otras formulaciones, productos instantáneos como sopas, postres, bebidas, para mejorar sus características sensoriales. O se podría mejorar su proceso de elaboración con el agregado de azúcar, para mejorar su textura y sabor.

BIBLIOGRAFÍA

- Anton AA, Luciano FB. 2007. Instrumental texture evaluation of extruded snack foods: a review. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 5(4): 245-251.
- Bressani R, De Martell ECM, De Godinez CM. 1993. Protein quality evaluation of amaranth in adult humans. *Plant Foods for Human Nutrition*, 43:123-43.
- Burgos VE, Armada M, Lescano GR. 2013. Calidad nutricional proteica de laminados de kiwicha, arroz y sémola de maíz. XIII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Libro de trabajos completos.
- Chen CH, Yeh AI. 2001. Effect of amylose content on expansion of extruded rice pellet. *Cereal Chemistry*, 78:261-266.
- Colonna P, Tayeb J, Mercier C. 1983. Extrusion cooking of starch and starchy products. *Extrusion Cooking*, American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, USA, 247-319
- Colonna P, Buelon A, Mercier C. 1987. Physically modified starches. In: *Starch: Properties and potential*. Galliard, T. (ed). Society of Chemical Industry, Chichester, 13: 79-114.
- Espitia-Rangel E. 1994. Breeding of grain amaranth. In: *Paredes-López, O. (Ed.): Amaranth Biology, Chemistry and Technology*. CRC Press, Boca Raton FL, USA, 155-184.
- Fontanet I, Davidou S, Dacremont C, Le Meste M. 1997. Effect of water on the mechanical behaviour of extruded flat bread. *Journal of Cereal Science*, 25(3): 303-311.
- Gamel TH, Mesallam AS, Damir AA, Shekib LA, Linssen JP. 2007. Characterization of amaranth seeds oils. *Journal of Food Lipids*, 14(3): 323-334.

- Gökmen S. 2004. Effects of moisture content and popping method on popping characteristics of popcorn. *Journal of Food Engineering*, 65(3): 357–362.
- Gondek E, Lewicki PP. 2006). Antiplasticization of cereal-based products by water. Part II: Breakfast cereals. *Journal of Food Engineering*, 77(3): 644.
- Halek GW, Paik S, Chang K. 1989. The effect of moisture content on mechanical properties and texture profile parameters of corn meal extrudates. *Journal of Texture Studies*, 20(1): 43-56.
- Hoseney RC, Zeleznak K, Abdelrahman A. 1983. Mechanism of popping popcorn. *Journal of Cereal Science*, 1:43–52.
- León K, Mery D, Pedreschi F, León J. 2006. Color measurement in L* a* b* units from RGB digital images. *Food Research International*, 39: 1084-1091.
- Marzec A, Lewicki PP. 2006. Antiplasticization of cereal-based products by water. Part I. Extruded flat bread. *Journal of Food Engineering*, 73(1): 1-8.
- Official Methods of Analysis of AOAC International. 1996. Solids Total and Moisture in Flour. Method 925.09. 16 th Edition.
- Zapotoczny P, Markowski M, Majewska K, Ratajski A, Konopko H. 2006. Effect of temperature on the physical, functional, and mechanical characteristics of hot-air-puffed amaranth seeds. *Journal of Food Engineering*, 76: 469–476.
- Pittia P, Sacchetti G. 2008. Antiplasticization effect of water in amorphous foods. A review. *Food Chemistry*, 106(4): 1417-1427.
- Roos YH. 1995. The physical state of amorphous materials. In: *Phase Transitions in Foods*. J. S. Taylor. New York, Academic Press: 26-34 y 193.
- Roudaut G, Dacremont C, Vallès Pàmies B, Colas B, Le Meste M. 2002. Crispness: a critical review on sensory and material science approaches. *Trends in Food Science & Technology*, 13(6-7): 217-227.
- Schoenlechner R, Siebenhandl S, Berghofer E. 2008. Pseudocereals. In: Arendt, E., Bello, F.D. (eds.): *Gluten-free cereal products and beverages*. Academic Press, U.S.A, 149–176.
- Shogren RL, Swanson CL, Thompson AR. 1992. Extrudates of cornstarch with urea and glycols: Structure/mechanical property relations. *Starch – Stärke*, 44(9): 335-338.
- Song A, Eckhoff SR. 1994. Optimum popping moisture content for popcorn kernels of different sizes. *Cereal Chemistry*, 71:458–460.
- Witing de Penna E. 1981. *Evaluación Sensorial. Una Metodología Actual para la Tecnología de Alimentos*. Talleres Gráficos USSACH.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la directora del Instituto de Investigación Sensorial de Alimentos, Lic. Raquel Guanca, por brindar el lugar y materiales para llevar a cabo los ensayos de Evaluación Sensorial. Se agradece al Mgs. Juan Robin, por la colaboración en la utilización del laminador y elaboración del producto laminado de kiwicha.

LOS ALIMENTOS Y SU COCCIÓN: EMPLEO DE AGUAS ARSENICALES

Cabanillas-Vidosa I., Rosso M.E., Sandrini R., Corelli M.

JLA: Argentina S.A. - Bv. Italia 1150 - (X5809BAS) General Cabrera
- Córdoba - Argentina
mcorelli@jla.com.ar

Resumen: La presencia de arsénico en fuentes de aguas, es un tema que tomó estado público en Argentina en 1913 y aún un siglo después, sigue despertando preocupación en la población mundial. Por medio del presente estudio, se caracterizó la influencia del uso de aguas arsenicales provenientes de zonas endémicas, en el proceso de cocción de diferentes alimentos. Porciones representativas de arroz, soja, papas y fideos secos, disponibles comercialmente, se cocieron en recipientes abiertos empleando agua subterránea, de red y mineral. La cuantificación se llevó a cabo mediante Espectrometría de Masas con Plasma Inductivamente Acoplado (ICP-MS), previa digestión ácida asistida con microondas. Se logró determinar la aptitud de cada tipo de agua, en base a la cantidad de As transferida a los diferentes alimentos.

Palabras clave: Aguas arsenicales, Arsénico, Cocción de alimentos, ICP-MS

Abstract: The presence of arsenic in water sources is an issue that became public in Argentina in 1913 and even a century later, continues to arouse concern in the global population. Through this study, the influence of the use of water from arsenic-

endemic areas in the cooking of different foods was characterized. Representative portions of rice, soybeans, potatoes and noodles commercially available were cooked in open vessels using groundwater, tap-water and mineral-water. Quantification was performed by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS) after microwave-assisted acid digestion. It was possible to determine the suitability of each type of water, based on the amount of As transferred to different foods.

Keywords: Arsenical waters, Arsenic, Cooked foods, ICP-MS

INTRODUCCIÓN

El arsénico, a diferencia de otros elementos también potencialmente riesgosos para la salud (como mercurio, plomo, cadmio, etc) es un contaminante que en mayor o menor medida, está presente en prácticamente todos los alimentos. Su presencia se debe a que es un componente natural de la corteza terrestre, y aún si se eliminase toda contribución humana al medioambiente, todavía habría arsénico en los alimentos. En adición a ello, la consecuente presencia de arsénico en fuentes de aguas, es un tema que tomó estado público en nuestro país en 1913 y que aún un siglo después, sigue despertando preocupación en la población mundial. Los riesgos en la salud humana, derivados de la ingesta crónica de alimentos y principalmente el consumo de agua, ambos con no necesariamente elevados niveles de arsénico, ya han sido caracterizados clínicamente como *Arsenicosis* o hidroarsenicismo crónico regional endémico, *HACRE* (Biagini *et al.* 1995).

En América Latina, se estima que la población en riesgo supera los 14 millones de personas, con elevada incidencia en casi todos los países de la región (Bundschuh *et al.* 2008). Particularmente en Argentina, dicha población ha sido estimada en 4 millones de personas (www.as2014.com.ar), y considerando que el sur cordobés es una zona endémica, se abordó el presente trabajo caracterizando el contenido final de arsénico en algunos alimentos, posterior al proceso de cocción.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras

En el estudio se incluyeron muestras comerciales de arroz, soja, papas y fideos secos, los dos últimos sin niveles detectables de arsénico. Para la cocción se emplearon 2 diferentes muestras de la zona sur de la provincia de Córdoba: Agua Subterránea, extraída de una perforación de 25 m de profundidad, ubicada en una zona rural, y Agua de Red; ambas conteniendo concentraciones de As por encima del límite de 0,01 mg/L, establecido por la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) en el Código Alimentario Argentino (CAA) para aguas de consumo humano (CAA-ANMAT-CapXII 2007). Como referencia comparativa, se empleó agua mineral.

Proceso de cocción

Se llevaron a calentamiento hasta ebullición, 420 mL de agua contenidos en beaker de 1L. Comenzada la ebullición, se agregaron 90 g de la muestra alimenticia y el sistema en dicha condición, se mantuvo durante 15 minutos. Posteriormente, se dejó enfriar y mediante filtración se separaron las porciones correspondientes al alimento cocido, del agua remanente del proceso de cocción. Mediante balances de masa, se determinó en cada caso la cantidad de agua evaporada. Los valores informados corresponden al promedio del proceso de cocción realizado por duplicado y en paralelo.

Digestión ácida

Una muestra representativa de 0,5 g de cada alimento (crudo o cocido), y/o 2 mL de agua remanente del proceso de cocción, fueron digeridos en vaso cerrado y con asistencia de microondas (Anton Paar, modelo GO), previa adición de una mezcla de HNO₃ y H₂O₂. En todos los casos, cada muestra fue digerida por duplicado.

Procedimiento analítico

La cuantificación de As se llevó a cabo por ICP-MS (Perkin Elmer, modelo NexION 300X), empleando para la reducción de interferentes, la celda de colisión con Helio. El Límite de Detección del Método (LDM) es 0,001 mg/L y 0,020 mg/kg, para aguas y matrices sólidas, respectivamente.

Controles de Calidad

Todas las determinaciones analíticas fueron desarrolladas por duplicado, donde la diferencia relativa entre las réplicas siempre se mantuvo <10%. En cada una de las rondas de digestión se realizaron blancos de reactivos y fortificados, obteniendo tasas de recuperación comprendidas entre 80 y 110%. La performance del método se chequeó con materiales de referencia certificados del NIST: Arroz 1568b y Espinaca 1570a.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se cuantificó la concentración de arsénico mediante ICP-MS, para las tres muestras de agua empleadas y en las dos porciones resultantes del proceso: el alimento cocido y el agua remanente.

Tabla 1: Concentración de Arsénico en alimentos cocidos y en agua remanente del proceso.

Agua:	Concentración de As en productos de cocción:			
	Arroz: (0,251 mg/kg)	Soja: (0,030 mg/kg)	Papa: (ND)	Fideos: (ND)
Mineral (0,001mg/L)	Cocido: 0,074mg/kg	Cocida: ND	Cocida: ND	Cocido: ND
	Agua: 0,037mg/L	Agua: 0,009mg/L	Agua: 0,003mg/L	Agua: 0,003mg/L
de Red (0,031mg/L)	Cocido: 0,091mg/kg	Cocida: 0,069mg/kg	Cocida: 0,038mg/kg	Cocido: 0,028mg/kg
	Agua: 0,067mg/L	Agua: 0,108mg/L	Agua: 0,049mg/L	Agua: 0,030mg/L
Subterránea (0,261mg/L)	Cocido: 0,241mg/kg	Cocida: 0,335mg/kg	Cocida: 0,321mg/kg	Cocido: 0,242mg/kg
	Agua: 0,329mg/L	Agua: 0,594mg/L	Agua: 0,389mg/L	Agua: 0,303mg/L

Nota 1: Los valores entre paréntesis indican la concentración de arsénico determinada en cada una de las muestras originales.

Nota 2: La Incertidumbre expandida *U* para todos los valores informados es de 22%, con un factor de cobertura *k* de 2.

Nota 3: ND = No Detectado, concentración por debajo del LDM.

Si bien la **Tabla 1** brinda información detallada de dichas concentraciones, el análisis comparativo no puede ser desarrollado de manera directa por 2 motivos principales:

a) durante el proceso existe una notable evaporación de agua, cantidad que depende tanto del origen del agua utilizada como del alimento involucrado; y

b) distintas matrices alimenticias absorben y/o retienen diferentes cantidades de agua.

En consecuencia, fue necesario plantear un balance de masas para cada uno de los sistemas, donde el eje principal sea *la cantidad* de As, y no *la concentración*. Ejemplo de uno de los balances, se muestra en la **Tabla 2**, para el caso de la cocción de arroz en Agua Mineral.

Como primer resultado global de los balances de masa desarrollados, es posible afirmar que bajo las presentes condiciones experimentales, la cantidad total de arsénico contenida en el sistema, permanece prácticamente constante. Ello indica que el arsénico sólo es intercambiado entre la matriz alimenticia y el agua, y se descarta su eliminación junto a la porción de agua evaporada durante la cocción.

Tabla 2: Balance de masas para cocción de Arroz en Agua Mineral.

Previo al proceso de cocción:			Posterior al proceso de cocción:		
Sistema inicial:	Concentr. As:	Cant. As:	Sistema final:	Concentr. As:	Cant. As:
90 g Arroz crudo seco	0,251 mg/kg	22,6 µg	290g Arroz cocido húm.	0,074 mg/kg	21,5 µg
420 mL Agua Mineral	0,001 mg/L	0,4 µg	83 mL agua remanente	0,037 mg/L	3,1 µg

Masa total: 510 g

Masa total: 373 g

(Agua evaporada: 137 g)

Porción alimentaria.

Para llevar a cabo el análisis, fue necesario definir la porción para cada matriz alimenticia. Según detalla la ANMAT (CAA-ANMAT-CapV 2005) la porción se define como la cantidad media del alimento a ser consumida por personas sanas, mayores de 36 meses de edad en cada ocasión de consumo, con la finalidad de promover una alimentación saludable.

Para desarrollar el presente trabajo, se cocieron idénticas cantidades de los 4 alimentos bajo las mismas condiciones experimentales; pero a los fines de analizar la ingesta de arsénico por parte del consumidor, se extrapolaron los resultados a las porciones asignadas por la ANMAT para arroz crudo (50 g); soja empleada en preparaciones tipo milanesa, albóndiga y hamburguesa (80 g); papa cocida (150 g) y fideos secos (80 g).

Tabla 3: Cantidad de As transferida entre el agua de cocción y una porción de alimento.

Agua:	As transferido en el proceso de cocción:			
	50 g de Arroz: (12,6 µg)	80 g de Soja: (2,4 µg)	150 g de Papas: (ND)	80 g de Fideos: (ND)
Mineral	- 0,7 µg	- (≥0,8) µg	-	-
de Red	+ 2,2 µg	+ 10,1 µg	+ 10,7 µg	+ 12,5 µg
Subterránea	+ 26,0 µg	+ 60,7 µg	+ 65,3 µg	+ 105,8 µg

Nota 1: Las cantidades en gramos reflejan la porción de consumo definida por el CAA-ANMAT: Capítulo V.

Nota 2: Los valores entre paréntesis indican las cantidades de arsénico en la porción de alimento original.

En la **Tabla 3** se detallan las cantidades de As transferidas en cada sistema, durante el proceso de cocción y en base una porción alimentaria. Cantidades positivas indican que el alimento absorbe As desde el agua de cocción; mientras que valores negativos, denotan un proceso inverso, es decir, que la matriz lo cede, hecho que únicamente ocurre al emplear agua libre de arsénico (Agua Mineral).

Agua Mineral.

La cocción en agua mineral se realizó como proceso de referencia, asignando sus resultados al procedimiento ideal para el consumidor que tiene acceso a agua libre de arsénico, o al menos, con niveles por debajo de 0,01 mg/L (concentración recomendada por la ANMAT para agua potable).

En términos generales, es posible distinguir los resultados obtenidos de aquellos alimentos que contienen As en sus matrices originales (arroz y soja), de aquellas libres de dicho elemento (papas y fideos). Como se esperaba, el proceso no influyó sobre los alimentos libres de arsénico; aunque repercutió positivamente en la cocción de las matrices que lo contenían. Para el caso del arroz, se observó que la cantidad de arsénico (12,6 µg) contenida en una porción de 50 g del alimento crudo, por acción del proceso de cocción se reduce a 11,9 µg. Esta disminución refleja la transferencia de 0,7 µg desde el alimento al agua de cocción (ver **Tabla 3**), reduciendo la cantidad de arsénico total a ser ingerida por el consumidor, en aproximadamente un 6%. Bajo idénticas condiciones experimentales, la porción de soja mostró una tendencia similar, obteniéndose el producto cocido final sin niveles detectables de

arsénico. Ello indica que la matriz original cedió al menos 0,8 µg al agua de cocción.

Agua de Red.

El procedimiento que involucró el empleo de agua de red correspondiente a comunidades urbanas emplazadas en zonas endémicas (As = 0,031 mg/L), cuyo contenido excede la concentración máxima recomendada de 0,01 mg/L para agua potable, mostró una tendencia general de enriquecimiento de arsénico durante el proceso de cocción, en concentraciones variables y dependientes de la matriz de que se trate.

Como se detalla en la **Tabla 3**, la cocción del arroz condujo a una absorción de 2,2 µg de As, lo que representa un aumento del 18% respecto a la cantidad presente en el alimento crudo (12,6 µg). Para el caso de la porción de soja (80 g), la cantidad transferida desde el agua de cocción fue más marcada: 10,1 µg. En consecuencia, el contenido pasó desde 2,4 µg a 12,5 µg, representando un incremento del 421%. Las dos matrices restantes, papas y fideos, absorbieron 10,7 µg y 12,5 µg, respectivamente.

La cantidad de arsénico absorbida desde el agua de cocción en idénticas condiciones experimentales para los cuatro diferentes alimentos, es muy variable y no permite predecir o extrapolar la posible absorción de otras matrices. Sin embargo, la propensión general al enriquecimiento en As por parte de alimentos cocidos con agua arsenical y en recipientes abiertos, es coincidente con estudios anteriores (Rahman *et al.* 2006, Bae *et al.* 2002, Perelló *et al.* 2008), donde la tendencia ha sido asociada a la creciente concentración de As en el agua de cocción, consecuencia de la evaporación.

Agua Subterránea.

Con respecto a los ensayos que involucran aguas Subterráneas, los resultados confirman su inapropiado uso para la cocción de alimentos. La absorción de arsénico durante el proceso fue en general muy elevada: el arroz prácticamente duplicó el contenido original (de 12,6 μg a 26 μg); las porciones de soja y papa, desde un contenido mínimo o no detectable pasaron a contener cerca de 60 μg ; y como se indica en la **Tabla 3**, la cocción de fideos reflejó la situación más desfavorable, acumulando en el proceso más de 100 μg .

Ingesta diaria máxima recomendada.

Si bien se logró cuantificar el arsénico absorbido por cada porción alimenticia al emplear diferentes muestras de agua, es necesario fijar un marco de referencia para indicar si la cantidad es significativa. Para ello, la Organización Mundial de la Salud, y por su intermedio, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (WHO/FAO), han fijado el límite de 3 μg diarios de arsénico inorgánico por kg de peso corporal (JECFA 2011). Este valor, denominado $BMDL_{0.5}$ (*Benchmark dose for a 0.5% increased incidence of lung cancer*) representa la dosis de referencia que aumenta en 0,5% la incidencia de cáncer de pulmón. Así, para una persona media de 70 kg, la ingesta máxima diaria de $As-i$ asciende a 210 μg . Si bien en el presente trabajo se ha determinado arsénico total, es conocido que las especies presentes en agua son casi exclusivamente $As(III)$ y $As(V)$, es decir, especies iónicas circunscriptas al grupo del $As-i$ (Hasegawa *et al.* 1999, Kumaresan *et al.* 2001, Mandal *et al.* 2002,

Smedley *et al.* 2002). Por lo expuesto, es posible asumir que la cocción de alimentos en aguas arsenicales, incrementa su contenido exclusivamente en $As-i$.

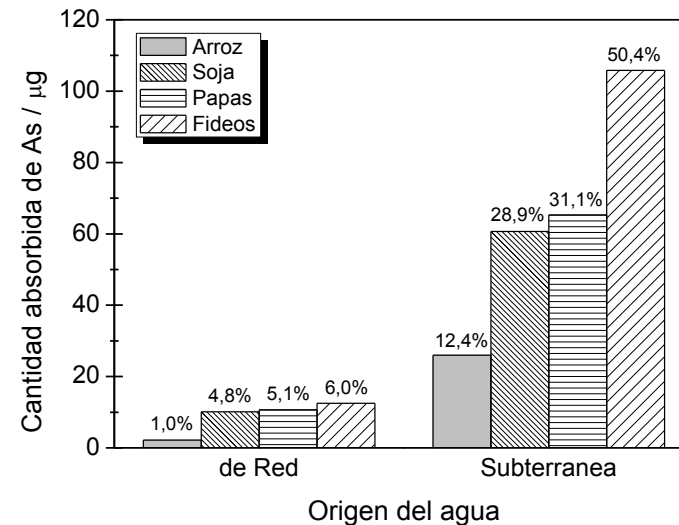


Figura 1: Cantidad absorbida de As durante el proceso de cocción, para 4 diferentes porciones alimenticias cocidas en dos diferentes muestras de agua arsenical. El porcentaje refleja la incidencia de cada proceso con respecto a $BMDL_{0.5}$ (ver texto para más detalles).

En la **Figura 1** se puede observar una comparación gráfica de la incidencia del uso de las dos muestras de agua arsenical, sobre cada proceso de cocción. En cada una de las barras se indica el porcentaje que representa la cantidad absorbida, con respecto a la dosis de referencia $BMDL_{0.5}$ (210 μg de $As-i$ para una persona media de 70 kg).

Se destaca el gran incremento en la ingesta de arsénico que produce la cocción de alimentos en aguas subterráneas de zonas endémicas (As = 0,261 mg/L). Si bien el empleo de este tipo de agua es inadecuado en los 4 casos de estudio, la cocción de fideos secos refleja el peor escenario: el consumo de una porción preparada bajo estas condiciones, aportaría al consumidor cerca de 106 µg de As-*i*, es decir, el 50% de la dosis máxima diaria.

Por otra parte, los resultados derivados del empleo de Agua de Red (0,031 mg/L), indican que el arsénico absorbido en el proceso de cocción aporta entre el 1% y el 6% de la dosis máxima diaria. La ingesta de arsénico debida a la preparación de los alimentos en este tipo de agua, no puede evaluarse como significativa; principalmente, si se compara con el aporte proveniente del consumo directo del agua de red arsenical. La hidratación diaria de una persona adulta se estima en 1,5 litros, por lo que la ingestión que acompaña a este proceso asciende a 46 µg de As-*i*, es decir, un 22% de la dosis máxima diaria *BMDL*_{0.5}.

CONCLUSIONES

En el presente estudio se determinó que la incidencia en la ingesta de arsénico, debida al consumo de una porción de arroz, papas, soja o fideos secos, cocidos en agua conteniendo niveles por encima de lo establecido por el ANMAT (As = 0,01 mg/L), no supera el 6% de la dosis diaria máxima establecida por la WHO/FAO para una persona media de 70 kg. Comparativamente, el principal problema de poblaciones urbanas de zonas endémicas, donde se distribuye agua potable con niveles de As entre 0,01 y 0,05 mg/L, no está entonces centrado en su empleo para la preparación de alimentos, sino en la ingesta directa por hidratación, y las aún hoy desconocidas consecuencias crónicas de este consumo. Adicionalmente, el estudio aporta evidencias de una problemática aún mayor: la alarmante ingesta de arsénico presente en familias establecidas en zonas rurales, donde el acceso al agua de consumo se restringe a fuentes subterráneas arsenicales (As > 0,10 mg/L).

BIBLIOGRAFÍA

- Bae M, Watanabe C, Inaoka T, Sekiyama M, Sudo N, Bokul MH, Ohtsuka R. 2002. Arsenic in cooked rice in Bangladesh. *The Lancet*, 360: 1839-1840.
- Biagini R, Salvador M, Querio R, Torres Soruco C, Biagini M, Diez Barrantes A. 1995. HACRE: Casos diagnosticados en el período 1972-1993. *Arch. Argent. Dermatol.*, 45: 47-52.
- Bundschuh J, Pérez Carrera A, Litter MI. 2008. Distribución del arsénico en la región Ibérica e Iberoamericana. Buenos Aires. Editado por CYTED.
- CAA-ANMAT-CAPÍTULO V: Normas para la rotulación y publicidad de los alimentos, Resol. Conjunta SPRyRS 149/2005 y SAGPyA 683/2005
- CAA-ANMAT-CAPÍTULO XII: Bebidas hídricas, agua y agua gasificada, Art. 982, Res. Conjunta SPRyRS y SAGPyA 68/2007 y 196/2007
- Hasegawa H, Matsui M, Okamura S, Hojo M, Iwasaki N, Sohrin Y. 1999. Arsenic speciation including "hidden" arsenic in natural waters. *Appl. Organomet. Chem.*, 13: 113-119.
- JECFA-Report 72 The Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO/WHO), Expert Committee on Food Additives 2011 (<http://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/chemical.aspx?chemID=1863>)
- Kumaresan M, Riyazuddin P. 2001. Overview of speciation chemistry of arsenic. *Current Sci.*, 80: 837-846.
- Mandal, B., Suzuki, K. 2002. Arsenic round the world: a review. *Talanta*, 58: 201-235.

Perelló G, Martí-Cid R, Llobet JM. 2008. Effects of various cooking processes on the concentrations of arsenic, cadmium, mercury, and lead in foods. *J. Agric. Food Chem.*, 56: 11262-11269.

Rahman MA, Hasegawa H, Rahman MA, Rahman MM, Miah MAM. 2006. Influence of cooking method on arsenic retention in cooked rice related to dietary exposure. *Sci. Total Environ.*, 370: 51-60.

Smedley P, Kinniburgh D. 2002. A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Appl. Geochem.*, 17: 517-568.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a la Dra. Silvia Farías de CNEA, por sus aportes en la implementación y puesta a punto de los análisis por ICP-MS; y a J. M. Leek por proveer las facilidades para el desarrollo del presente trabajo.

INCIDENCIA DEL ÍNDICE DE MADUREZ DE LAS ACEITUNAS EN LA CALIDAD QUÍMICA Y SENSORIAL DE ACEITES DE OLIVA VIRGEN EXTRA

Ceci L.N.¹, Mattar S.B.², Carelli A.A.¹

1: Planta Piloto de Ingeniería Química (PLAPIQUI), Universidad Nacional del Sur-CONICET, Bahía Blanca, Argentina,

2: Facultad de Ciencias de la Alimentación, Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Católica de Cuyo, San Juan, Argentina.

lceci@plapiqui.edu.ar

Resumen: Se estudió la incidencia del índice de madurez (IM) de las aceitunas sobre la calidad química-sensorial de aceites de oliva vírgenes de la provincia de San Juan. El estudio abarca los varietales *Arbequina* (A), *Coratina* (C) y *Changlot* (Ch) y las cosechas 2012 y 2013. Los IM de las aceitunas fueron optimizados en el año 2013 (A= 0,32-3,27; C= 0,33-1,36, Ch= 2,53-3,33) con respecto al 2012 (A= 2,52-5,22; C= 1,60-2,97, Ch= 4,60-5,06) a fin de obtener aceites de mejor calidad. La optimización del momento de cosecha con menores IM de las aceitunas mejoró el índice de estabilidad oxidativa (OSI) de los aceites (A= 8,1-13,8 h y 10,6-19,0 h; C=20,5-26,0 h y 24,6-42,4 h; Ch= 6,0-12,1 h y 17,2-36,9 h; en 2012 y 2013, respectivamente). Esta mayor estabilidad oxidativa está directamente relacionada con un excelente perfil de ácidos grasos con más altos contenidos de ácido oleico y más bajos porcentajes de ácidos linoleico y linolénico. La optimización del IM también mejoró los contenidos de biofenoles y tocoferoles con propiedades antioxidantes. El análisis sensorial reveló una mejora significativa

con el manejo del IM en 2013 logrando frutados de mayor intensidad, descriptores y matices más verdes, con mayor armonía y complejidad.

Palabras clave: aceite de oliva virgen, índice de madurez, calidad, análisis sensorial

Abstract: The effect olive fruits ripeness index (RI) on the chemical and sensory quality of virgin olive oils from San Juan province was evaluated. The study includes the varietals *Arbequina* (A), *Coratina* (C) and *Changlot* (Ch), and 2012 and 2013 harvests. To improve the oil quality, the RI was optimized in 2013 (A= 0.32-3.27; C= 0.33-1.36, Ch= 2.53-3.33) with respect to 2012 (A= 2.52-5.22; C= 1.60-2.97, Ch= 4.60-5.06). The oxidative stability index (OSI) enhanced when RI was optimized for all the monovarietal oils (A= 8.1-13.8 h and 10.6-19.0 h, C=20.5-26.0 h and 24.6-42.4 h, Ch=6.0-12.1 h and 17.2-36.9 h, in 2012 and 2013, respectively). This major oxidative stability is directly related with higher oleic acid content and lower levels of linoleic and linolenic acids. As well, the RI optimization improved the contents of biophenols and tocopherols, compounds with antioxidant properties. The enhancement was also observed in oil sensory analysis obtaining oils with more intense fruity, greener descriptors and hues as well as major harmony and complexity.

Keywords: virgin olive oil, ripening index, quality, sensory analysis

INTRODUCCIÓN

Actualmente, Argentina destina el 70% de su producción de aceites de oliva a la exportación, 21.000 t en el período 2013/2014, según las estimaciones del Consejo Oleícola Internacional (COI 2014), siendo nuestros principales compradores Brasil y Estados Unidos. Por otro lado, en nuestro país el consumo interno de aceites de oliva se ha incrementado 5,8 % en los últimos 5 años manteniéndose estable en 6.000 t en los últimos tres períodos.

San Juan ocupa un lugar importante entre las provincias productoras con un área destinada al cultivo de 18.680 ha en 2010 (Ceci y Carelli 2010a) y alrededor del 15% de las exportaciones de aceites de oliva argentinos; habiendo incrementado además 227% los volúmenes exportados en el período 2000/2009 (Antuña 2010). Debido a sus particulares condiciones climáticas y edafológicas y la disponibilidad de sistemas de riego que utilizan el agua de deshielo de la Cordillera de los Andes, San Juan produce aceites de excelente calidad, siendo esencial su caracterización química y sensorial con fines de exportación.

El área de crecimiento de los olivos, su origen genético, los índices de madurez (IM) de los frutos y las condiciones de procesamiento influyen las calidades química y sensorial de los aceites de oliva (Ranalli y Angerosa 1996, Lazzez *et al.* 2008, Ceci y Carelli, 2010a, Diraman *et al.* 2010).

El COI establece los estándares que regulan el comercio internacional de aceites de oliva incluyendo criterios de calidad y pureza (COI 2013). Los criterios de calidad incluyen análisis

químicos y sensoriales mientras que los criterios de pureza involucran determinaciones químicas tales como composición de ácidos grasos (AG), esteroides, ceras, entre otras. Algunos análisis químicos no se encuentran regulados, tales como fenoles y tocoferoles, pero son importantes porque estos compuestos imparten cualidades nutraceuticas y/o sensoriales, como así también contribuyen a la estabilidad oxidativa durante el almacenaje. El análisis de los atributos sensoriales positivos (frutado, amargo y picante en una escala de 0 hasta 10) y la detección de algunos defectos, tales como, avinado o avinagrado, rancio, húmedo, madera por aceitunas heladas, etc., también se utilizan para clasificar los aceites de oliva en base a su calidad.

EL objetivo de este trabajo fue analizar la incidencia del IM de las aceitunas sobre la calidad química y sensorial de aceites de oliva de los varietales *Arbequina*, *Changlot* y *Coratina* de la provincia de San Juan (Argentina). Para ello, se estudiaron los perfiles de AG y los contenidos de componentes minoritarios (biofenoles y tocoferoles), y se midieron los descriptores sensoriales usando un panel de jueces homologado por el COI.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aceites

Los frutos de oliva de los varietales *Arbequina*, *Changlot Real* y *Coratina* fueron cosechados en 2012y 2013 en los Departamentos de 25 de Mayo, Sarmiento y Zonda pertenecientes a la provincia de San Juan, Argentina. El IM de las aceitunas, en el momento de la cosecha, fue determinado mediante una escala de 0 a 7, basada en el color de la piel y la

pulpa (Kiritsakis 1998). En la **Tabla 1** se muestran los rangos de IM de las aceitunas discriminados por varietal y año de cosecha.

Tabla 1: Varietales, Índices de madurez (IM) de las aceitunas y rendimientos de aceite

	Cosecha 2012			Cosecha 2013		
	<i>Arbequina</i> (6) ^a	<i>Changlot</i> (4) ^a	<i>Coratina</i> (5) ^a	<i>Arbequina</i> (6) ^a	<i>Changlot</i> (6) ^a	<i>Coratina</i> (4) ^a
IM	2,52-5,22	4,60-5,06	1,60- 2,97	1,60-3,27 ^b	2,53-3,33	0,33- 1,36
Rendimiento^c	9,8-17,1	12,0-25,9	15,8- 22,1	7,7-19,2	13,6-28,5	13,6- 18,9

^a Número de muestras de cada varietal que fueron procesadas.

^b Una muestra con IM= 0,32 fue excluida por presentar defecto de avinado.

^c Litros de aceite/100 kg de aceitunas procesadas.

Los aceites se obtuvieron procesando aproximadamente 100 kg de aceitunas con un equipo decantador de dos fases (OLIOMIO). El rango de temperaturas de batido fue 20,0-27,5°C y el tiempo de batido 40 min. Las muestras de aceite fueron conservadas hasta su análisis a temperaturas de aproximadamente 5 °C en atmósfera de nitrógeno y protegidas de la luz.

Análisis químicos

Se utilizaron los siguientes **estándares cromatográficos**: para la determinación de AG, una mezcla de metil ésteres de AG (C14-C30, pureza = 99%); para la cuantificación de tocoferoles, α -tocoferol (pureza = 95%) provistos por Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA).

En lo que respecta a los ensayos de calidad, **Índice de Peróxidos** (IP) y **Acidez libre** se realizaron usando los métodos Cd 8b-90 y

Ca 5a-40, respectivamente (AOCS 2009). Mediante análisis espectrofotométrico en el UV se determinaron los coeficientes de extinción (K) a 270 nm y 232 nm y el valor de ΔK a 270 nm (COI 2008).

El **Índice de Estabilidad Oxidativa** (OSI) se determinó usando un aparato Rancimat Metrohm 679, a 110°C con un flujo de aire de 20 L/h y expresando los resultados como el tiempo de inducción en horas.

Los AG se determinaron como ésteres metílicos por transesterificación en frío, con solución metanólica de hidróxido de potasio (COI 2001). Los ésteres se analizaron por CGL de acuerdo al método 2.302 (IUPAC 1992). Se utilizó un cromatógrafo HP 4890D con un procesador de datos Chemstation HP3398a GC (Hewlett-Packard Company, Palo Alto, CA) y una columna SP2380 [poli (90% bicianopropil/10% cianopropilfenilsiloxano) estabilizado], longitud=30 m, d.i.=0.25 mm, espesor film=0.25 μ m (Supelco Inc., Bellefonte, PA). El programa de temperaturas del horno de columnas fue 170°C (15 min), 4°C/min, 210°C (10 min) usando hidrógeno como gas portador (17 cm/min), FID, temperatura de inyector=220°C y relación de "split" 1:100.

Los compuestos fenólicos fueron recuperados de una solución de aceite en hexano mediante 3 extracciones con metanol/agua (60% v/v) y el **contenido de fenoles totales** fue determinado usando el reactivo de Folin-Ciocalteu a 725 nm y una curva de calibración realizada con diferentes concentraciones (0-20 μ g/mL) de ácido cafeico (Gutfinger 1981).

Los **tocoferoles** fueron evaluados por HPLC de acuerdo al método Ce 8-89 (AOCS 2009). Se empleó un detector de fluorescencia y una columna LiChrosorb Si-60 de Merck,

Darmstadt, Alemania (longitud=25 cm; d.i.=4 mm, tamaño partícula=5 μm).

Todos los análisis químicos se realizaron por triplicado, excepto AG que se llevó a cabo por duplicado haciendo 2 inyecciones de cada uno en el cromatógrafo gaseoso. Los resultados se expresan como rangos de valores medios para cada varietal y cosecha.

Análisis sensorial

El análisis sensorial fue realizado por el Panel de Cata de la UCCuyo homologado por el COI, integrado por 12 jueces y utilizando para el procesamiento de datos el programa Excel para PC (COI 2005, 2011).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la cosecha 2012 se procesaron aceitunas con un rango amplio de IM incluyendo algunas muestras en avanzado estado de madurez. En el año 2013 se adelantó la cosecha 20 días para obtener un rango más acotado de IM con el objetivo de evaluar la calidad química y sensorial de los aceites obtenidos.

Los valores de acidez libre en la cosecha 2012 se encontraron dentro del rango 0,13-0,38 (como ácido oleico % m/m) para los tres variedades estudiados. En el año 2013 no se observaron diferencias en cuanto a este parámetro que se ubicó entre 0,14 y 0,36 %. Es de destacar que de acuerdo a la normativa internacional vigente todos los aceites se ajustaron al valor límite $\leq 0,8$ % para aceites de oliva virgen extra (COI 2013). Sin embargo, se verifica que en muestras cuya acidez es mayor al 0,5

%, en un gran porcentaje no clasifican sensorialmente como virgen extra. Es conocido que la acidez libre es un indicador de deterioro hidrolítico por la acción de lipasas endógenas que hidrolizan los triglicéridos y depende esencialmente de la calidad de las aceitunas y sus condiciones de almacenaje previas al procesamiento (Kiritsakis 1998).

Los peróxidos son los productos primarios de los procesos de oxidación que se aceleran en los aceites por la presencia de oxígeno, algunos metales como hierro y cobre, y luz (Kiritsakis 1998). En el año 2012 los IP fueron $\leq 10,4$ mEq/kg y en la cosecha 2013 se ubicaron por debajo de 8,0 mEq/kg. Teniendo en cuenta este parámetro los aceites se clasificaron también dentro de la calidad virgen extra que requiere IP ≤ 20 mEq/kg (COI 2013).

En lo que respecta a la absorción espectrofotométrica en el UV, los coeficientes de extinción a 270 nm, zona de absorción de los hidroperóxidos, se ajustaron para todos los variedades en las dos cosechas al valor límite fijado para aceites virgen extra $K_{270} \leq 0,22$ (COI 2013). En la cosecha 2012, una muestra del varietal *Coratina* tuvo un valor de K_{270} ubicado en el límite máximo. La optimización de los IM de las aceitunas en 2013 tuvo un efecto beneficioso ubicando este parámetro por debajo de 0,18 para los aceites de los tres variedades. La absorción a 232 nm, adjudicada a la presencia de aldehídos y cetonas insaturados como productos secundarios de oxidación se ajustó en ambas cosechas a los valores límites $\leq 2,50$ para los variedades *Coratina* y *Changlot*. Dos muestras de los aceites del varietal *Arbequina* presentaron K_{232} mayores que 2,50 con valores hasta 2,99 en la cosecha 2012. En la cosecha 2013 al acotar los IM de las aceitunas, sólo una muestra de *Arbequina* tenía un K_{232} igual a 2,77 más cercano al valor límite. Fue notable en el transcurso de esta investigación la

relación IM avanzados con valores elevados de K_{232} . Valores de K_{232} que excedían el valor límite para aceites de oliva del varietal *Arbequina* han sido detectados previamente en las regiones intra-continentales cálidas de Argentina, incluyendo La Rioja, Catamarca y NO de la provincia de Córdoba (Ceci y Carelli 2007). La determinación de K_{232} y su valor límite sólo se aplica con carácter facultativo para los socios comerciales cuando el aceite se pone a disposición del consumidor final en el país de destino (COI 2013).

El principal índice de pureza de los aceites de oliva es su perfil de AG y se debe ajustar a los valores requeridos para todas las calidades de aceites de oliva (COI 2013). En la **Tabla 2** se muestran los contenidos de los principales AG para los aceites de los tres varietales en las cosechas 2012 y 2013. En la cosecha 2012 se observó que 3 de las 6 muestras de *Arbequina* presentaban bajos contenidos de ácido oleico (O, C18:1 < 55,00 %). Los contenidos de los ácidos palmítico (P, C16:0), palmitoleico (Po, C16:1) y linoleico (L, C18:2) se ajustan completamente a lo requerido por la normativa (P= 7,50-20,00 %, Po= 0,30-3,50 % y L= 3,50-21,00 %). En estudios previos se detectaron bajos contenidos de O, acompañado en algunas muestras por altos contenidos de P, Po y L en aceites virgen extra de regiones intra-continentales cálidas de nuestro país (Ceci y Carelli 2007, 2010a). El adelanto de la fecha de cosecha en 2013 produjo un aumento de los contenidos de O para el varietal *Arbequina* y sus valores se ajustan a los requeridos no observándose desviaciones (**Tabla 2**). Los aceites de los varietales *Changlot* y *Coratina* presentan contenidos de O ubicados por encima de 67,92 % y en ambos varietales se observó un aumento en el contenido de este AG al adelantar la fecha de cosecha de las aceitunas en 2013 (**Tabla 2**). Los

contenidos de los AGL L y linolénico (Ln, C18:3) con dos y tres dobles enlaces se redujeron al acotar los IM de las aceitunas (**Tabla 2**). Esto permitió que los contenidos de estos AG se ajustaran mejor a los límites máximos fijados por la normativa. Por otro lado, el adelanto de la cosecha de las aceitunas aumentó la relación entre los AG mono insaturado y poli insaturados [O/(L+Ln)] que contribuye a mejorar la estabilidad oxidativa de los aceites (**Tabla 2**). El mayor número de dobles enlaces en los AG, facilita las reacciones de oxidación que se desarrollan sobre ellos. Así, para los aceites del varietal *Changlot* esta relación se incrementó desde el intervalo 4,44-5,93 en 2012 hasta 6,63-8,00 en 2013 y en los aceites de *Coratina* desde 5,04-6,95 hasta 6,62-9,39. Es notable el efecto de la optimización del momento de cosecha de las aceitunas para mejorar las relaciones O/(L+Ln) de los aceites de los tres varietales estudiados. Se ha demostrado que esta relación de AG contribuye en 55,3 % a la estabilidad oxidativa de los aceites de oliva (Ceci y Carelli 2010b).

El contenido de biofenoles se destacó en los aceites de *Coratina* donde se registraron hasta 657 mg equivalentes de ácido cafeico/kg (**Tabla 2**). En los varietales *Arbequina* y *Changlot* se observaron en general mayores contenidos en 2013 donde fueron acotados los IM de las aceitunas procesadas. Los compuestos fenólicos se encuentran entre los componentes minoritarios del aceite de oliva pero son de fundamental importancia, por un lado por su actividad como antioxidantes naturales y sus propiedades nutraceuticas; y por otro lado, por su contribución a las características amargas y picantes. Es concluyente que la optimización del momento de cosecha de las aceitunas resulta en un mayor nivel de antioxidantes fenólicos. En trabajos previos el contenido de fenoles totales, determinado

con el reactivo de Folin-Ciocalteu, demostró una contribución aproximada de 24,1 % a la estabilidad oxidativa de los aceites, siendo en este aspecto los compuestos minoritarios más relevantes y siguiendo en importancia al perfil de AG (Ceci y Carelli 2010b).

Los aceites del varietal *Coratina* también se caracterizaron por más altos contenidos de tocoferoles totales con valores de hasta 473 mg/kg (**Tabla 2**). La optimización del momento de cosecha en 2013 permitió obtener aceites con más altos contenidos de tocoferoles totales, fundamentalmente en los varietales *Arbequina* y *Changlot*. Los porcentajes relativos del isómero α dependieron del varietal y se ubicaron en los rangos 94,0-97,2 % en 2012 y 94,1-95,9 % en 2013 para *Arbequina*, mientras que

Coratina presentó rangos de α -tocoferol 91,0-92,9 % en 2012 y 91,5-92,4 % en 2013 y en *Changlot* se observaron intervalos 95,2-95,7 % en 2012 y 91,1-93,5 % en 2013. Es destacable que en los aceites de oliva predomina el α -tocoferol con actividad de vitamina E y con mayor actividad antioxidante *in vivo* (Madhavi et al. 1996). Los aceites de algunos varietales como *Coratina* presentaban bajas concentraciones de δ -tocoferol (1-4 mg/kg en ambas cosechas). Los isómeros β , γ y δ tienen mayor actividad antioxidante *in vitro* que el isómero α y protegen al aceite durante su almacenaje. Es así, que el isómero β ha demostrado diferenciar a los varietales en cuanto a su actividad antioxidante contribuyendo en baja proporción (1,9 %) a la estabilidad oxidativa *in vitro* de los aceites de oliva (Ceci y Carelli 2010b).

Tabla 2: Rangos de contenidos de los AG más relevantes, fenoles totales, tocoferoles totales, índices de estabilidad oxidativa y principales atributos sensoriales positivos

Análisis Químicos	Cosecha 2012			Cosecha 2013		
	Arbequina	Changlot	Coratina	Arbequina	Changlot	Coratina
AG(% m/m)^a						
Palmitico (P, C16:0)	18,03-19,21	11,46-12,89	11,15-13,48	16,50-18,89	11,07-13,22	11,11-13,64
Palmitoleico (Po, C16:1)	1,88-3,15	0,75-1,07	0,46-0,69	1,48-2,74	0,74-1,06	0,44-0,57
Oleico (O, C18:1)	53,89-61,00	67,92-72,02	70,96-72,82	56,38-64,94	72,20-74,50	73,45-75,66
Linoleico (L, 18:2)	15,29-20,86	11,45-14,48	9,69-13,12	13,23-18,93	8,74-10,40	7,17-10,31
Linolénico (Ln, 18:3)	0,72-0,81	0,60-0,81	0,77-0,95	0,60-0,76	0,53-0,77	0,76-0,87
O/(L+Ln)	2,51-3,80	4,44-5,93	5,04-6,95	2,87-4,70	6,63-8,00	6,62-9,39
Fenoles totales^b (mg/kg)	70-158	39-157	362-657	107-194	125-364	394-487
Tocoferoles totales^b (mg/kg)	211-298	93-151	322-473	219-327	107-214	303-391

OSI ^b (h)	6,3-13,8	6,0-12,0	20,5-26,0	10,6-19,0	13,7-36,9	24,6-42,4
Análisis sensorial						
Frutado verde	3,0-4,1 (3) ^c	2,7-4,0 (4) ^c	3,5-5,3 (5) ^c	4,2-4,7 (3) ^{c,d}	5,0-5,5 (4)	3,7-4,4 (3) ^c
Frutado maduro	2,5-2,6 (2) ^c	-	-	4,2-5,5 (2) ^{c,d}	4,5-5,8 (2) ^c	3,8 (1) ^c
Amargo	0,9-2,0	3,5-4,0	4,1-5,4	1,0-2,5 ^d	1,5-6,5	2,8-4,0
Picante	1,5-2,3	2,0-3,5	4,9-5,5	2,5-4,0 ^d	3,0-6,3	4,4-5,0
Armonía	4,0-6,0	6,0-7,0	3,5-6,0	7,0-8,2 ^d	6,5-8,0	6,0-7,0

^a Intervalos de valores medios de dos réplicas analizadas por duplicado en el cromatógrafo gaseoso.

^b Intervalos de valores medios de tres réplicas.

^c Entre paréntesis se indica el número de muestras que presentaron ese atributo positivo.

^d Una muestra fue excluida por presentar defecto de avinado.

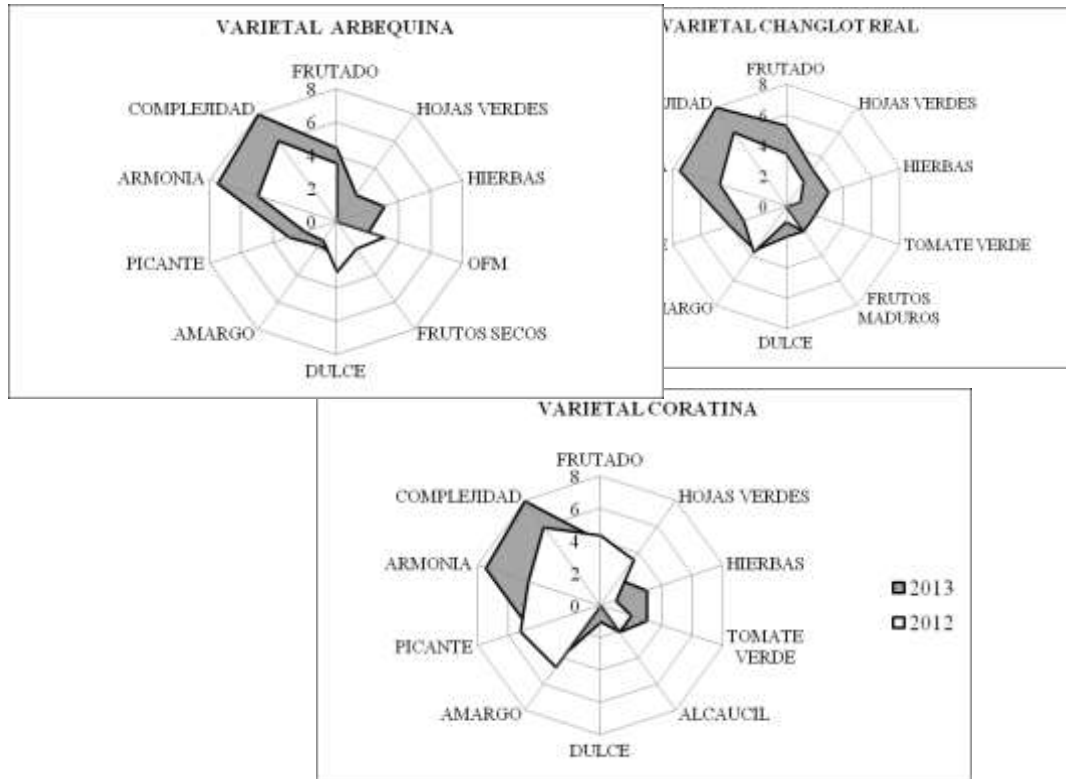
Los efectos de la optimización del momento de cosecha de las aceitunas fueron concluyentes sobre los índices de estabilidad oxidativa de los aceites obtenidos. En los aceites de los tres varietales los OSI aumentaron en la cosecha 2013 y el efecto fue muy notorio para el varietal *Changlot* en todas las muestras, donde en 2012 se observó un rango 6,0-12,0 h y en 2013 aumentó hasta 13,7-36,9 h. Además, para los aceites del varietal *Arbequina*, en 2012 se observó un OSI máximo de 13,8 h que aumentó hasta 19,0 h en 2013 y para el varietal *Coratina* en 2013 se observaron OSI de hasta 42,4 h.

En la cosecha 2013 se detectó mediante el análisis sensorial que una muestra presentaba defecto de "avinado" y los resultados no se incluyeron en la **Tabla 2**. Todos los análisis químicos realizados sobre esta muestra la habían clasificado como aceite de calidad virgen extra. Esto indica la importancia del análisis sensorial conjuntamente con los análisis químicos para categorizar la calidad de los aceites de oliva.

El análisis sensorial reveló que la optimización del momento de cosecha de las aceitunas en 2013 proporcionó aceites con una mayor complejidad en los frutados y la aparición de una gama de frutados verdes, verdes con notas maduras, maduros con notas verdes y maduros (**Tabla 2**). Se observó también que la optimización del momento oportuno de cosecha de las aceitunas producía una mayor armonía entre los atributos positivos frutado, amargo y picante. Como se puede observar en la **Tabla 2**, para los aceites del varietal *Arbequina* la armonía aumentó desde 4,0-6,0 hasta 7,0-8,2 y para los del varietal *Coratina* se elevó desde 3,5-6,0 hasta 6,0-7,0.

En la **Figura 1** se presentan los perfiles sensoriales comparativos medios de las cosechas 2012 y 2013 para los tres varietales estudiados. Se observa claramente que la optimización del

momento de cosecha de las aceitunas en 2013 proporcionó aceites con mayor armonía y complejidad, con frutados, amargos y picantes promedios más altos. Se intensifican las notas verdes, tales como hierbas, hojas y tomates verdes, y fundamentalmente la complejidad, que viene dada por la aparición de mayor número de descriptores dependiendo del varietal. En este aspecto el análisis sensorial tiene la capacidad de diferenciar muestras clasificadas dentro de la calidad virgen extra y se encuentra respaldado por su correlación con los análisis químicos (Mattar *et al.* 2012, Cobos *et al.* 2014).



variaron desde 9,8-17,1 % en 2012 hasta 7,7-19,2 % en 2013 y para el varietal *Coratina* desde 15,8-22,1 % hasta 13,6-18,9 %. Este aspecto merece ser estudiado más ampliamente quedando evidenciada la mayor calidad sensorial y química obtenida, sin dejar de lado la estabilidad revelada en el OSI.

Figura 1: Perfiles sensoriales medios comparativos entre las cosechas 2012 y 2013 para los tres varietales estudiados. OFM= Otros frutos maduros.

Algunos rendimientos de aceite fueron más bajos en 2013 acotando los IM de las aceitunas cosechadas; sin embargo, no se detectaron pérdidas apreciables en dichos rendimientos (**Tabla 1**). Así, los rendimientos de aceite para el varietal *Arbequina*

CONCLUSIONES

La optimización del momento de cosecha de las aceitunas permite obtener aceites de oliva de una mejor calidad química y sensorial. Es posible así obtener aceites que exhiben un mejor perfil de AG con más altos contenidos de ácido oleico monoinsaturado y más bajos niveles de los ácidos linoleico y linolénico más fácilmente oxidables. Se pueden mejorar también los contenidos de compuestos fenólicos que son los principales compuestos antioxidantes del aceite y lograr atributos sensoriales más complejos y armónicos.

Además, el manejo de los IM de las aceitunas puede ser empleado como herramienta para mejorar la calidad química y sensorial de los aceites sin disminuir apreciablemente sus rendimientos y sostiene la hipótesis de las ventajas en cuanto al mejor manejo del momento oportuno de cosecha con un adecuado equilibrio rendimiento-calidad.

BIBLIOGRAFÍA

- Antuña JC. 2010. Olivo, aceite de oliva: análisis de la situación internacional y exportaciones. Anuario 2010 años 2000 a 2009. 1ª ed. Buenos Aires, Argentina: Ediciones INTA.
- AOCS, American Oil Chemists' Society. 2009. Official methods and recommended practices. 6ª ed. Urbana, IL, USA: AOCS.
- Ceci LN, Carelli AA. 2007. Characterization of monovarietal Argentinian olive oils from new productive zones. *Journal of American Oils Chemists' Society*, 84: 1125-1136.
- Ceci LN, Carelli AA. 2010a. Compositional data review of monovarietal Argentinian olive oils. En: Tomás M, editor. *Advances in fats and oil research*. Kerala, India: Editorial Research Signpost. pag 71-97.
- Ceci LN, Carelli AA. 2010b. Relation between oxidative stability and composition in Argentinian olive oils. *Journal of American Oils Chemists' Society*, 87: 1189-1197.
- Cobos B, Tomsig L, Kricak L, Mattar SB, Carelli AA, Ceci LN. 2014. Sensory and chemical characterisation of monovarietal virgin olive oils from San Juan province, Argentina. *Acta Horticulturae*, 1057: 635-641.
- COI, Consejo Oleícola Internacional. 2001. Preparación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos del aceite de oliva y el aceite de orujo de oliva. COI/T.20/Doc. N° 24, <http://www.internationaloliveoil.org>
- COI. 2005. Método de valoración organoléptica del aceite de oliva virgen extra que opta a una denominación de origen. COI/T.20/Doc. N° 22.

COI. 2008. Prueba espectrofotométrica en el ultravioleta. COI/T.20/Doc. N° 19/Rev. 2.

COI.2011. Sensory analysis of olive oil. Method for the organoleptic assessment of virgin olive oil. COI/T.20/Doc. N° 15/Rev. 4.

COI. 2013. Norma comercial aplicable a los aceites de oliva y los aceites de orujo de oliva. COI/T.15/NC N° 3/Rev. 7.

COI. 2014. Cifras del mercado mundial de aceites de oliva, <http://www.internationaloliveoil.org>

Diraman H, Saygi H, Hisil Y. 2010. Relation between geographical origin and fatty acid composition of Turkish virgin olive oils for two harvest years. *Journal of American Oils Chemists' Society*, 87:781-789.

Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oil. *Journal of American Oils Chemists' Society*, 58: 966-968.

IUPAC, International Union of Pure and Applied Chemistry. 1992. Standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives. 7^a ed. Oxford, England: Blackwell Scientific Publications Inc.

Kiritsakis AK. 1998. Olive oil: from the tree to the table. 2^a ed. Trumbull, CT, USA: Food & Nutrition Press. pag 41.

Lazzez A, Perri E, Caravita MA, Khlif M. 2008. Influence of olive maturity stage and geographical origin on some minor components in virgin olive oil of the *Chemlali* variety. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56:982-988.

Madhavi DL, Deshpande SS, Salunkhe DK. 1996. Food antioxidants. New York, USA: Marcel Dekker.

Mattar SB, Carelli AA, Ceci LN. 2012. Relación entre análisis químicos y sensoriales en aceites de olive de la provincial de San Juan. *La Alimentación Latinoamericana*, 299: 50-56.

Ranalli A, Angerosa F. 1996. Integral centrifuges for olive oil extraction. The qualitative characteristics of products. *Journal of American Oils Chemists' Society*, 73: 417-422.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue financiado por ANPCyT (Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica), CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas), UNS (Universidad Nacional del Sur) y UCCUYO (Universidad Católica de Cuyo).

GELIFICACIÓN EN FRÍO DE SUSPENSIONES DE PROTEÍNAS DE SUERO LÁCTEO CON DIFERENTES NIVELES DE CONCENTRACIÓN, PH Y AGREGADO DE Ca^{+2}

Ceruti R.J., Sihufe G.A., Zorrilla S.E.

Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (UNL-CONICET), Santa Fe, Argentina
rceruti@santafe-conicet.gov.ar

Resumen: Las proteínas de suero lácteo (PSL), de alto valor nutricional y con diversas propiedades funcionales de interés tecnológico como las de gelificación, presentan un gran potencial de uso. La gelificación en frío de las PSL inducida por Ca^{+2} ha sido estudiada fundamentalmente utilizando aislados de proteínas de suero (WPI), pero el uso de concentrados de proteína de suero (WPC) ha sido poco explorado. En este estudio, se analizó la influencia de la concentración proteica (6, 7, 8, 9% (p/p)), pH (6.5, 7.0, 7.5) y cantidad de Ca^{+2} añadida (10, 50, 200 mmol/L) sobre la gelificación en frío de suspensiones de WPC80 (aproximadamente 80% (p/p) de proteína) precalentadas. La gelificación de las suspensiones por agregado de Ca^{+2} se logró para valores de pH de 7.0 ó 7.5. Las suspensiones con mayor contenido de proteína gelificaron con mayor facilidad. Se determinó la capacidad de retención de agua (CRA) de los geles obtenidos. La CRA de los geles obtenidos varió según las condiciones ensayadas, observándose valores de CRA mayores para contenidos proteicos más elevados. En este trabajo se muestra un rango de condiciones operativas para la obtención

de geles a partir de WPC mediante el proceso de gelificación en frío inducida por Ca^{+2} .

Palabras clave: proteínas de suero lácteo, gelificación en frío, retención de agua

Abstract: In addition to their high nutritional value, functional properties of technological interest such as gelling, are commonly attributed to whey proteins (PSL), thus having a great potential use. Ca^{+2} -induced cold gelation of PSL has been mainly studied using whey protein isolate (WPI), whereas very few information can be found when whey protein concentrates (WPC) are considered. In this work, the influence of protein concentration (6, 7, 8, 9% (w/w)), pH (6.5, 7.0, 7.5), and added Ca^{+2} (10, 50, 200 mmol/L) on cold-set gelation of pre-heated WPC80 (approximately 80% of protein) suspensions was evaluated. Ca^{+2} induced cold-set gelation was possible at pH values of 7.0 or 7.5. Fast gelation was observed for suspensions with high protein levels. Water holding capacity (CRA) of the gels was measured. Different CRA levels were observed as conditions varied and high CRA values were obtained in gels with high protein concentrations. A range of operative conditions are shown for effective Ca^{+2} -induced cold set gelation of WPC.

Keywords: whey proteins, cold-set gelation, water holding capacity

INTRODUCCIÓN

El suero lácteo, obtenido a partir de la leche principalmente como resultado de la coagulación de las caseínas, hasta hace poco fue considerado como un gran problema de eliminación de residuos para la industria láctea. El alto contenido en lactosa y proteínas del suero lácteo (PSL) hacen que el lactosuero sea un material altamente contaminante debido a la elevada demanda biológica de oxígeno asociada a estos compuestos. Por lo tanto, es necesario tener en cuenta el impacto ambiental que tiene su desecho (Jelen 2011). Por otro lado, este elevado contenido de proteínas de gran valor biológico –principalmente las proteínas globulares β -lactoglobulina (β -lg), α -lactoalbúmina (α -la) y en menor medida albúmina sérica bovina (ASB) e inmunoglobulinas– hacen del lactosuero una fuente de compuestos potencialmente aprovechables por la industria alimenticia, debido a sus propiedades funcionales únicas. Entre estas propiedades se destacan la capacidad emulsionante, espesante, espumante, gelificante y de retención de agua (Bryant y McClements 1998).

El calentamiento de proteínas globulares en solución acuosa induce cambios conformacionales complejos en las moléculas en los que las zonas hidrofóbicas quedan expuestas y así las moléculas pueden interactuar, promoviendo la formación de agregados. La velocidad y magnitud de este proceso depende de un equilibrio de fuerzas repulsivas y atractivas entre las moléculas, en el que el pH y la fuerza iónica juegan un papel importante dado que determinan la carga neta y el rango de interacción electrostática (Gimel *et al.* 1994). Durante la misma

etapa de calentamiento y por encima de una concentración crítica de proteínas, a partir de los agregados proteicos se forman geles de manera irreversible (geles inducidos por calor). Sin embargo, a concentraciones menores, con valores de pH cercanos a la neutralidad y baja fuerza iónica, el proceso de agregación se detiene en un punto y entonces se pueden formar suspensiones proteicas estables (Alting *et al.* 2003). Estas suspensiones de agregados proteicos tienen la capacidad de gelificar en una etapa posterior, si se reduce la repulsión electrostática entre los agregados, lo que puede lograrse aumentando la concentración de sales o desplazando el pH a valores más cercanos al punto isoeléctrico de las proteínas, siendo este proceso conocido como gelificación en frío (Ako *et al.* 2010).

Cuando la gelificación en frío es inducida por sales, esta ocurre de manera diferente si la sal contiene cationes divalentes (en especial Ca^{+2}) o monovalentes (en especial Na^{+}). Así, el proceso de gelificación en frío inducido por Na^{+} , para aislados de proteína de suero (WPI) previamente desnaturalizados por calor, ocurre en una sola etapa, mientras que la gelificación en frío inducida por Ca^{+2} ocurre con una primera etapa de agregación rápida de los agregados de proteína más grandes, seguido por una más lenta, de los agregados proteicos más pequeños (Marangoni *et al.* 2000). El catión divalente Ca^{+2} tiene una mayor efectividad para inducir la gelificación que los cationes monovalentes, ya que menores concentraciones son suficientes para inducir la gelificación en frío. Esto se debe a que un ión con mayor valencia es más efectivo para disminuir las interacciones repulsivas electrostáticas y al hecho de que los iones Ca^{+2} pueden formar puentes iónicos entre las moléculas de proteínas

cargadas negativamente, lo que favorece la agregación y posterior formación del gel (Bryant y McClements 2000a).

En estudios previos con PSL, se exploró fundamentalmente la gelificación bajo distintas condiciones y las propiedades de estos geles cuando se usan proteínas puras, especialmente β -lg (Ako *et al.* 2010) y WPI (Ju y Kilara 1998, Bryant y McClements 2000b). Sin embargo, son muy escasos los antecedentes de estudios de gelificación en frío utilizando como fuente de PSL un producto más heterogéneo, económico y disponible comercialmente como los concentrados de proteína de suero (WPC). El objetivo del presente trabajo fue analizar la influencia de la concentración proteica, el pH y la cantidad de Ca^{+2} añadida sobre la gelificación en frío de suspensiones de WPC80.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

En todas las experiencias se usó un concentrado de proteína de suero WPC80 comercializado como LACPRODAN-80 (Arla Foods Ingredients, Porteña, Argentina). El contenido de proteína se determinó por el método de Kjeldahl (Büchi Labor Technik AG, 1998). El contenido de humedad se determinó con un horno microondas CEM AVC80 (CEM, Matthews, Estados Unidos) y el contenido de cationes (Ca, Mg, Na y K) por espectroscopía de absorción atómica, tras una digestión de las muestras según el método EPA 200.3 (McDaniel 1991). Para la preparación de las soluciones conteniendo Ca^{+2} se usó $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Anedra Research AG, Tigre, Argentina) y agua desionizada.

Diseño experimental

Se consideraron tres factores: concentración de proteínas, pH y concentración agregada de Ca^{+2} . Se evaluaron cuatro niveles de concentración de proteínas (6, 7, 8 y 9% (p/p)), tres niveles de pH (6.5, 7.0 y 7.5) y tres niveles de agregado de Ca^{+2} (concentraciones finales agregadas de 10, 50 y 200 mM), resultando 36 tratamientos. Cada tratamiento se evaluó por duplicado.

Obtención de las suspensiones y los geles

Cada suspensión se preparó pesando la cantidad necesaria de WPC y llevando a masa final con agua desionizada. Se agitó durante una hora a temperatura ambiente y se agregaron 200 ppm de azida sódica para prevenir el desarrollo de microorganismos no deseados. Las suspensiones fueron almacenadas en heladera durante una noche. Luego se ajustó el pH al valor deseado con NaOH 1 N a temperatura ambiente. Para el tratamiento térmico se usaron tubos de vidrio (diámetro: 0.9 cm, altura: 10cm) conteniendo 3 mL de la suspensión. Todas las suspensiones se calentaron a 80°C por 30 min en un baño de agua. De acuerdo a mediciones previas, las suspensiones demoraron menos de 2 min para alcanzar la temperatura del baño. Una vez finalizado el calentamiento, los tubos se enfriaron en baño de hielo durante 5 min y fueron llevados a heladera durante una noche. Luego se agregó el volumen de solución de Ca^{2+} necesario para alcanzar la concentración final deseada a temperatura ambiente. Se agitó moderadamente con vortex y se dejó en reposo.

Aspecto visual de las suspensiones y geles obtenidos

Luego del agregado del Ca^{+2} se realizó una valoración subjetiva de la viscosidad en las suspensiones precalentadas y de la formación de los geles a distintos tiempos (15, 30, 45, 60, 75, 90, 120 min y 24 h). La valoración de la viscosidad se realizó visualmente inclinando el tubo y observando la resistencia a fluir de la suspensión.

Determinación de la capacidad de retención de agua de los geles

En los casos donde hubo gelificación, se determinó la capacidad de retención de agua (CRA) de los geles. Para ello se utilizó el método de centrifugación y pesada empleado por Kuhn *et al.* (2010). Brevemente, luego de 48 h en heladera se pesaron pequeños trozos de gel (alrededor de 0.6 g) antes y después de ser centrifugados (a 10°C y 124g durante 5 min) envueltos en papel de filtro dentro de tubos usando una centrífuga Biofuge 28RS (Heraeus Sepatech, Osterode, Alemania). Se hicieron determinaciones por duplicado para cada gel.

Para el cálculo de la CRA se utilizó la ecuación (1):

$$CRA = 100 \left(1 - \left(\frac{H_2O \text{ liberada (g)}}{H_2O \text{ gel (g)}} \right) \right)$$

(1)

donde H_2O liberada es la cantidad de agua liberada en el papel de filtro luego de la centrifugación (obtenida por diferencia de masa del gel antes y después de ser centrifugado) y H_2O gel es la cantidad de agua en el gel antes de la centrifugación, obtenida

por cálculo a partir de la cantidad de agua total que se agregó para formar los geles.

Análisis estadístico

El análisis estadístico de los valores de CRA se efectuó mediante ANOVA usando como factores la concentración de proteínas, el pH y la concentración agregada de Ca^{+2} . Cuando las diferencias entre los factores fueron significativas ($P < 0.05$), se hizo una comparación múltiple de medias usando el test de LSD. Para el análisis se usó el software Statgraphics Plus for Windows v. 2.1 (Statistical Graphics Corp., Rockville, MD, Estados Unidos).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición del WPC

En la **Tabla 1**, se informan los valores de composición del producto. Los resultados de contenido de cationes obtenidos están incluidos dentro del rango referido en trabajos previos (Morr y Ha 1993, Havea *et al.* 2002, Riou *et al.* 2011) a excepción del Mg, que presentó un valor un orden menor.

Tabla 1: Composición del WPC80 utilizado.

Composición general % p/p (BH)	
proteínas	76.5 ± 1.4
humedad	7.0 ± 0.4
lactosa*	7 ± 2
grasa*	máx. 8
cenizas*	máx. 3.5
Minerales g/kg (BH)	
Na ⁺	12.2 ± 0.4
K ⁺	6.3 ± 0.9
Ca ⁺²	2.97 ± 0.02
Mg ⁺²	0.091 ± 0.001

* Según información provista por el fabricante.

Aspecto de las suspensiones luego del calentamiento

Luego del calentamiento, se observaron suspensiones más turbias, viscosas y de color más blanquecino. En los casos con mayor contenido de proteínas, se observó mayor viscosidad de las suspensiones calentadas. Las suspensiones con 9% de proteínas y pH 6.5 gelificaron durante la etapa de calentamiento. Todas las restantes suspensiones a pH 6.5 (6, 7 y 8% proteínas) tuvieron un aspecto similar, siendo más blancuzcas, turbias y viscosas que sus correspondientes a pH 7.0 y 7.5.

Aspecto de los geles obtenidos

Los resultados del seguimiento de la viscosidad de las suspensiones o formación de geles luego del agregado de Ca⁺² se muestran en la **Tabla 2**. Estos resultados fueron muy similares entre duplicados para cada tratamiento, salvo en el caso de los

tubos con 7% de proteínas, pH 7.5 y 200 mM de Ca⁺² agregado, donde se informan ambos resultados.

En el nivel más bajo de agregado de Ca⁺² (10 mM) sólo se obtuvieron geles en el caso de las suspensiones con el mayor nivel de proteínas (9%). En el caso de las suspensiones con 7 y 8% de proteínas y a pH 6.5, se observó que la viscosidad aumentó luego del agregado de Ca⁺², pero en la mayoría de los casos no hubo gelificación. Este último comportamiento estaría relacionado con la cercanía de este valor de pH al punto isoeléctrico (pI) del WPC (en el rango 4.4-5.2, Tello *et al.*, 2015), ya que a valores de pH cercanos al pI ocurre una mayor agregación. Bryant y McClements (1998) describen que el precalentamiento de PSL se hace típicamente a pH 7 o mayor para su posterior gelificación en frío inducida por sales. Además, Stănciuc *et al.* (2012) encontraron un grado de desnaturalización notablemente mayor a pH 6.6 que a pH 7.5 para suspensiones de 5% de WPC tratadas térmicamente a distintas temperaturas. De acuerdo a esto, a pH 6.5, si bien a nivel macroscópico no se observó la formación de geles para las suspensiones con 6, 7 y 8% de proteínas, el grado de agregación sería tan extenso que la adición posterior de Ca⁺² no sería efectiva para inducir la formación de geles, lo que también se verificaría a valores de pH aún más cercanos al pI del sistema.

La obtención de geles por gelificación en frío fue posible en la mayoría de las condiciones evaluadas, que en general incluye un rango de concentración de proteínas de 6 a 9%, pH 7.0 - 7.5 y 50-200 mM de Ca⁺² añadido. Para concentraciones de proteínas de 6 y 7% se observó un aumento progresivo de viscosidad en las suspensiones y gelificación a partir de los 45 min. Para algunas combinaciones de los demás factores, se observó un

tiempo de gelificación menor cuando se agregó 50 mM de Ca^{+2} que cuando se agregó 200 mM.

Los tiempos de gelificación más cortos se observaron a mayor contenido de proteínas (8 y 9%) y resultaron menores a 15 min en la mayoría de los casos. Sin embargo, la formación de los geles no fue instantánea, lo que permitió, luego del agregado de Ca^{2+} , homogeneizar la suspensión antes que empiece la gelificación. Esto no ocurre cuando se usa WPI, en cuyo caso la gelificación para suspensiones con alto contenido de proteínas es muy rápida y ocurre antes de que se pueda homogeneizar la mezcla. Por lo tanto, el Ca^{+2} sólo se puede agregar a través de membranas de diálisis y al ser un proceso lento, no permite el seguimiento de la gelificación en tiempo real (Barbut y Foegeding 1993).

Medición de la CRA

Los valores de CRA para los casos en que se obtuvieron geles variaron según las condiciones ensayadas (**Tabla 3**). Para realizar el ANOVA, se excluyeron los tratamientos de pH 6.5 y los de 10 mM de Ca^{+2} , dado que en dichas condiciones se obtuvieron geles en muy pocos casos (**Tabla 2**).

Se registraron valores de CRA bajos, de alrededor de 20%, hasta valores mayores a 60%. Si bien la concentración de proteínas en las suspensiones y el pH afectaron significativamente la CRA de los geles, el primer efecto fue más importante, observándose valores de CRA mayores para contenidos proteicos más elevados. Una influencia similar sobre la CRA fue observada por Hongsprabhas y Barbut (1997), usando WPI como fuente de PLS. El aumento en la capacidad de retención de agua con el contenido proteico en los geles puede atribuirse a la mayor cantidad de sitios de interacción de las moléculas de proteína con el agua (Khun *et al.* 2010).

Tabla 2: Análisis visual de las suspensiones y formación de geles a distintos tiempos a partir de suspensiones de WPC luego del agregado de Ca⁺².

% prot. (p/p)	pH	[Ca ⁺²] (mM)	15 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min	120 min	24 h		
6	6.5	10	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC		
		50	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC		
		200	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC		
	7.0	10	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC	
		50	S ^a	S ^b	S ^b	G	G	G	G	G	G	
		200	SC	SC	SC	SC	SC	S ^a	S ^b		G	
	7.5	10	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC	
		50	S ^a	S ^b	S ^b	G	G	G	G	G	G	
		200	SC	SC	SC	SC	SC	S ^a	S ^b		G	
	7	6.5	10	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a
			50	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^b	G
			200	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^b
7.0		10	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	
		50	S ^a	S ^b	G	G	G	G	G	G	G	
		200	S ^a	S ^b	G	G	G	G	G	G	G	
7.5		10	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC	S ^a	
		50	S ^a	S ^b	S ^b	G	G	G	G	G	G	
		200	S ^a	S ^b /S ^a	G/S ^b	G/S ^b	G/S ^b	G	G	G	G	
8		6.5	10	SC	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a
			50	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^b
			200	S ^a	S ^b	S ^b	S ^b	S ^b	S ^b	S ^b	S ^b	S ^b
	7.0	10	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	
		50	G	G	G	G	G	G	G	G	G	
		200	G	G	G	G	G	G	G	G	G	
	7.5	10	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	S ^a	
		50	S ^b	G	G	G	G	G	G	G	G	
		200	G	G	G	G	G	G	G	G	G	
	9	6.5	10	*	*	*	*	*	*	*	*	
			50	*	*	*	*	*	*	*	*	
			200	*	*	*	*	*	*	*	*	
7.0		10	G	G	G	G	G	G	G	G	G	
		50	G	G	G	G	G	G	G	G	G	
		200	G	G	G	G	G	G	G	G	G	
7.5		10	G	G	G	G	G	G	G	G	G	
		50	G	G	G	G	G	G	G	G	G	
		200	G	G	G	G	G	G	G	G	G	

SC: Suspensión sin cambios en apariencia luego del agregado del Ca⁺². S^a, S^b: Suspensiones más viscosas luego de agregar el Ca⁺² (viscosidad S^b > S^a). G: Gel formado (al invertir el tubo, no fluye líquido). * No se formaron suspensiones estables debido a que el calor provocó la gelificación.

Tabla 3: Valores promedio y desviación estándar de capacidad de retención de agua (CRA) para geles obtenidos a partir de diferentes concentraciones de proteínas, pH y agregado de Ca⁺².

% prot. (p/p)	pH	[Ca ⁺²] (mM)	CRA
6	7.0	50	29.1 ± 3.1 ^{cd}
		200	21.4 ± 2.5 ^{ab}
	7.5	50	22.6 ± 2.8 ^{abc}
		200	17.5 ± 3.9 ^a
7	7.0	50	28.4 ± 1.7 ^{bcd}
		200	24.0 ± 0.9 ^{abc}
	7.5	50	26.8 ± 4.0 ^{bc}
		200	35.4 ± 3.7 ^{de}
8	7.0	50	41.8 ± 7.6 ^{ef}
		200	42.1 ± 7.8 ^{ef}
	7.5	50	45.1 ± 3.9 ^{fg}
		200	47.8 ± 6.4 ^{fg}
9	7.0	50	51.2 ± 7.6 ^g
		200	60.9 ± 7.5 ^h
	7.5	50	67.4 ± 2.4 ^h
		200	61.3 ± 7.1 ^h

^{a-h}: Valores promedio con letras distintas son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se mostró que es posible obtener geles por gelificación en frío inducida por Ca^{+2} a partir de suspensiones de WPC80 en el rango de 6-9 % (p/p) de proteínas, mediante un procedimiento de preparación sencillo. Para que el proceso de gelificación ocurra rápidamente son necesarios contenidos proteicos de las suspensiones mayores a 8%.

Las condiciones de pH y nivel de agregado de Ca^{+2} en las suspensiones tienen influencia sobre el proceso de gelificación. Para poder obtener geles, el pH de las suspensiones antes de la etapa de calentamiento debe estar cerca de valores de neutralidad o ser levemente básicos, mientras que el Ca^{+2} puede inducir la gelificación en el rango de 10-200 mM.

Las diferentes propiedades físicas y mecánicas de los geles pueden variar de acuerdo a las condiciones en que se obtengan. En particular, pudo observarse que la capacidad de retención de agua de los geles depende sensiblemente del contenido de proteínas en las suspensiones.

BIBLIOGRAFÍA

- Ako K, Nicolai T, Durand D. 2010. Salt-induced gelation of globular protein aggregates: structure and kinetics. *Biomacromolecules*, 11: 864-871.
- Alting AC, Hamer RJ, de Kruif CG, Paques M, Visschers RW. 2003. Number of thiol groups rather than the size of the aggregates determines the hardness of cold set whey protein gels. *Food Hydrocolloids*, 17: 469-479.
- Barbut S, Foegeding EA. 1993. Ca^{+2} -induced gelation of pre-heated whey protein isolate. *Journal of Food Science*, 58: 867-871.
- Bryant CM, McClements DJ. 1998. Molecular basis of protein functionality with special consideration of cold-set gels derived from heat-denatured whey. *Trends in Food Science & Technology*, 9: 143-151.
- Bryant CM, McClements DJ. 2000a. Influence of NaCl and CaCl_2 on cold-set gelation of heat-denatured whey protein. *Journal of Food Science*, 65: 801-804.
- Bryant CM, McClements DJ. 2000b. Optimizing preparation conditions for heat-denatured whey protein solutions to be used as cold-gelling ingredients. *Journal of Food Science*, 65: 259-263.
- Gimel JC, Durand D, Nicolai T. 1994. Structure and distribution of aggregates formed after heat-induced denaturation of globular proteins. *Macromolecules*, 27: 583-589.
- Havea P, Singh H, Creamer LK. 2002. Heat-induced aggregation of whey proteins: Comparison of cheese WPC with acid WPC and relevance of mineral composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 4674-4681.

Hongsprabhas P, Barbut S. 1997. Protein and salt effects on Ca⁺²-induced cold gelation of whey protein isolate. *Journal of Food Science*, 62: 382-385.

Jelen P. 2011. Whey processing: Utilization and products. En Fuquay JW, Fox PF y McSweeney PLH, editores. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. 2^a ed. London: Academic Press. Vol. 4, pag 731-737.

Ju ZY, Kilara A. 1998. Textural properties of cold-set gels induced from heat-denatured whey protein isolates. *Journal of Food Science*, 63: 288-292.

Khun KR, Fazani Cavallieri AL, Lopes da Cunha R. 2010. Cold-set whey protein gels induced by calcium or sodium salt addition. *International Journal of Food Science and Technology*, 45: 348-357.

McDaniel W. 1991. Method 200.3 sample preparation procedure for spectrochemical determination of total recoverable elements in biological tissues. En: *Methods for the determination of metals in environmental samples*. US Environmental Protection Agency, pag 23-29.

Marangoni AG, Barbut S, McGauley SE, Marcone M, Narine SS. 2000. On the structure of particulate gels-the case of salt-induced cold gelation of heat-denatured whey protein isolate. *Food Hydrocolloids*, 14: 61-74.

Morr CV, Ha YW. 1993. Whey protein concentrates and isolates: Processing and functional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 33: 431-476.

Riou E, Havea P, McCarthy O, Watkinson P, Singh H. 2011. Behavior of protein in the presence of calcium during heating of whey protein concentrates solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59: 13156-13164.

Stănciuc N, Dumitrașcu L, Ardelean A, Stanciu S, Râpeanu G. 2012. A kinetic study on the heat-induced changes of whey proteins concentrate at two pH values. *Food Bioprocess Technology*, 5: 2160-2171.

Tello F, Falfan-Cortés RN, Martínez-Bustos F, Martins da Silva V, Hubinger MD, Grosso C. 2015. Alginate and pectin-based particles coated with globular proteins: Production, characterization and anti-oxidative properties. *Food Hydrocolloids*, 43: 670-678.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Nacional del Litoral, al CONICET y a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica por el financiamiento recibido.

ANÁLISIS DE PROPIEDADES FÍSICAS DE EMULSIONES ACUOSAS DE PECTINA Y CERAS DE GIRASOL PARA ELABORAR RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES

Chalapud M., Bäumlér E., Carelli A.

Planta Piloto de Ingeniería Química (PLAPIQUI), Universidad Nacional del Sur-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. La Carrindanga Km 7, C.C. 717, 8000 - Bahía Blanca, Argentina.

mchalapu@plapiqui.com.ar

Resumen: En el presente trabajo se expone la elaboración, estabilidad fisicoquímica, comportamiento reológico y características microestructurales de emulsiones acuosas de pectina y ceras de girasol, que serán utilizadas como base para desarrollar recubrimientos comestibles para alimentos. Las emulsiones se elaboraron con diferentes concentraciones de pectina (1, 2 y 3 % m/m) y relaciones cera/pectina (0,1, 0,2 y 0,3 g cera/g pectina). En el análisis de estabilidad para las dos concentraciones más altas de pectina se observó que la adición de mayor proporción de ceras genera inestabilidades como coalescencia y cremado, mientras que para la concentración más baja de pectina el sistema fue más estable contra la sedimentación. El comportamiento reológico fue descrito mejor por el modelo de la potencia. Los valores del índice de comportamiento (n) fueron cercanos a 1, indicando una aproximación a fluidos newtonianos. La adición de ceras de girasol implicó un incremento en la viscosidad y en el esfuerzo de corte. Se realizaron microfotografías utilizando un

microscopio de luz polarizada y un microscopio electrónico de barrido, las mismas permitieron observar la presencia de cristales de ceras, la dispersión de los mismos y la estructura formada, indicando la capacidad emulsificante de las pectinas con las ceras de girasol.

Palabras clave: Ceras de girasol, pectina, recubrimientos, emulsiones.

Abstract: This paper presents the preparation, physicochemical stability, rheological and microstructural characteristics of aqueous emulsions of sunflower waxes and pectin; they will be used as the basis for developing edible coatings for food. The emulsions were prepared with different pectin concentrations (1, 2 and 3 % w/w) and wax/pectin ratio (0,1, 0,2 and 0,3 g wax / g pectin). For the two highest concentrations of pectin, the stability analysis showed that the addition of higher proportion of waxes generated coalescence and creaming, while at the lowest concentration of pectin, the system was more stable against sedimentation. The rheological behavior was better described by the power law. The flow indexes (n) were close to 1, values near to those for Newtonian fluids. The addition of sunflower wax causes an increment in viscosity and shear stress. A polarized light microscope and a scanning electron microscope were used to take photomicrographs. It was possible to observe the presence of wax crystals, the dispersion of them and the structure formed, indicating the emulsifying ability of pectin acting in combination with sunflower waxes.

Keywords: Sunflower waxes, pectin, coatings, emulsions.

INTRODUCCIÓN

Los recubrimientos comestibles han venido proporcionando medios interesantes, complementarios y esenciales para el control de la calidad y la estabilidad de numerosos productos alimenticios (Guilbert *et al.* 1995). Estos recubrimientos contribuyen a reducir los cambios bioquímicos y de calidad en los productos, provocados por la transferencia de vapor de agua entre el alimento y su medio circundante, estimulando el incremento de su uso como alternativa a los empaques sintéticos (Debeaufort y Voilley 1995). La formulación de los recubrimientos debe incluir componentes capaces de formar una matriz adecuada, cohesiva y continua (Guilbert *et al.* 1995). Los recubrimientos pueden ser producidos a partir de emulsiones en las que un lípido se dispersa en una matriz acuosa (Baümler *et al.* 2013), de tal manera que se involucren pocas operaciones de preparación, que cada componente proporcione propiedades funcionales y que se reduzcan al mínimo las desventajas (Debeaufort *et al.* 1998). El desarrollo de los recubrimientos se ha centrado en las propiedades complementarias que aportan los polisacáridos, los cuales brindan una buena estructura, y en los lípidos que proporcionan una mejor barrera contra la humedad (Pérez-Gago y Krochta 2001). Comparaciones hechas por Schultz *et al.* (1949) demostraron que los ácidos grasos y ceras constituyen las sustancias hidrófobas más eficientes, limitando la transferencia de vapor de agua. La pectina es uno de los polisacáridos más usados en la formulación de recubrimientos comestibles, es un componente capaz de reducir la tensión interfacial entre fases hidrofílicas e hidrofóbicas y puede ser

eficiente en la elaboración de emulsiones (Leroux *et al.* 2003). Las ceras de girasol podrían mejorar las propiedades de barrera al vapor de agua de los recubrimientos elaborados a partir de emulsiones.

Las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables desde el punto de vista fisicoquímico, rápida o lentamente tienden a separarse en dos fases inmiscibles de acuerdo a su estabilidad cinética (Comas *et al.* 2006). Por lo tanto, la estabilidad de las mismas es una característica importante para determinar su eficiencia en la obtención de recubrimientos comestibles (Panchev *et al.* 2009). Los fenómenos de inestabilidad pueden darse debido a procesos físicos y químicos, los procesos físicos resultan en una alteración en la organización estructural de las moléculas como son los fenómenos de sedimentación, cremado, floculación o coalescencia (Mc Clements 1999). Los dos primeros incluyen migración de partículas y se consideran procesos reversibles y los dos últimos incluyen variación del tamaño de las partículas (coalescencia) o agregación de partículas (floculación) considerándose irreversibles (Pan *et al.* 2002, Lemarchand *et al.* 2003, Mengual *et al.* 1999). El conocimiento del comportamiento reológico de las emulsiones es muy útil en la optimización de procesos industriales. Las propiedades reológicas resultantes varían dependiendo de la concentración de sus componentes y del grado de interacción entre ellos (Ibanoglu 2002). Las técnicas de microscopía proporcionan información acerca de la estructura, dimensiones y organización de los componentes de las emulsiones. La organización estructural de las partículas influye en las propiedades de toda la emulsión, y, por lo tanto, en las propiedades de barrera de los recubrimientos elaborados a partir de dichas emulsiones (McHugh y Krochta 1994).

El objetivo de este trabajo es elaborar, analizar la estabilidad fisicoquímica, el comportamiento reológico y las características microestructurales de emulsiones acuosas de pectina y ceras de girasol, que serán utilizadas como base para desarrollar recubrimientos comestibles para alimentos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Elaboración de emulsiones

Las emulsiones fueron elaboradas hidratando la pectina de bajo metoxilo con agua destilada (1, 2 y 3% m/m), calentando a 85°C (temperatura superior al punto de fusión de las ceras) en un baño de agua por 15 minutos hasta disolución completa. Las ceras se añadieron en tres proporciones: 0,1, 0,2 y 0,3 g de cera de girasol/g de pectina. Todas las muestras fueron homogenizadas durante 10 minutos utilizando un homogenizador Pro 200 (Pro Scientific Inc. Oxford) y manteniendo la temperatura en 85°C para evitar la cristalización de las ceras.

Estabilidad fisicoquímica

La estabilidad fisicoquímica de las emulsiones fue estudiada usando un analizador vertical de barrido TURBISCAN MA 2000. Este analizador consiste en un cabezal de lectura que consta de una fuente de luz cercana al infrarrojo y dos detectores sincrónicos, dicho cabezal se mueve a lo largo de una celda cilíndrica de fondo plano durante la exploración de toda la altura de la muestra. El detector de transmisión (T) recibe la luz que atraviesa la muestra (0°), mientras que el detector de

backscattering (BS) recibe la luz retro dispersada por la muestra (135°). Luego de formar las emulsiones, aproximadamente 7 mL de cada una se colocaron en tres tubos concéntricos de fondo plano. A temperatura ambiente, el cabezal de lectura adquirió datos de T y BS cada 40 μm hasta una altura máxima de 70 mm. En la mayoría de las mediciones se usó sólo el detector backscattering dada la opacidad de las muestras. El perfil obtenido caracterizó la homogeneidad de la muestra y la concentración de partículas. Los parámetros se representaron por una curva que muestra el porcentaje de luz BS o T como una función de la altura de la muestra en milímetros. Cuanto mayor es el valor de % BS también lo es la cantidad de luz dispersada por las gotas y la turbidez de la muestra. Las mediciones a lo largo del tubo se repitieron aproximadamente cada 15 minutos durante las primeras 3 horas de elaborada la emulsión, luego a intervalos de tiempo más extensos (45 minutos, 1 hora) hasta llegar a medir una vez al día durante aproximadamente 42 días (1008 horas).

Reología

Las características reológicas de las emulsiones fueron determinadas usando un reómetro de esfuerzo controlado Anton Paar Physica MCR 301, utilizando una geometría de cilindros concéntricos (diámetro del rotor: 28,920 mm, altura del rotor: 40,000 mm, diámetro del vaso: 28,920 mm, volumen de muestra: 13 mL). Las pruebas se llevaron a cabo a 25°C. El rango de velocidad $\dot{\gamma}$ estuvo entre 0,1 y 100 s^{-1} .

Tamaño de cristales

El tamaño promedio de los cristales de cera en las emulsiones fue obtenido mediante un analizador por difracción láser HORIBA LA-950 V2. El tamaño promedio se expresó como el diámetro medio en volumen.

Microscopía

Se obtuvieron microfotografías a una magnificación de 400X, por triplicado, con un microscopio de luz polarizada Karl Zeiss (modelo Phomi III Pol) con videocámara Leica DFC 280 y software de adquisición Leica IM50. La microestructura de las emulsiones fue observada mediante imágenes tomadas a una magnificación de 13000X usando un Microscopio Electrónico de Barrido (VP-SEM) marca LEO, modelo EVO 40 XVP (Inglaterra), las muestras se lavaron con glutaraldehído, se montaron en stubs, se fijaron con cinta adhesiva y luego se recubrieron con oro (300 Å).

Análisis estadístico

Las diferencias significativas se analizaron mediante ANOVA doble y test de Fisher ($\alpha=0,05$). Se utilizó el software de análisis estadístico InfoStat Versión 2011 (Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estabilidad fisicoquímica

En todos los perfiles obtenidos se visualizó el acoplamiento de múltiples fenómenos de desestabilización. La **Figura 1** muestra perfiles de % BS en función de la altura de la muestra para las emulsiones con 1% m/m de pectina para las tres relaciones cera/pectina estudiadas. Con el incremento de la proporción de ceras, el fenómeno de sedimentación se va disipando en el fondo del tubo, el tamaño de las partículas aumenta en la zona media (coalescencia) y se evidencia migración de partículas hacia la parte superior (cremado). Las **Figura 2** y **3** corresponden a los perfiles de % BS para emulsiones con 2 y 3 % m/m de pectina, respectivamente, la presencia de señales negativas de BS indican la existencia de un fenómeno de clarificación en el fondo del tubo, coalescencia en el medio y cremado en la zona superior del tubo de muestra (picos positivos de BS).

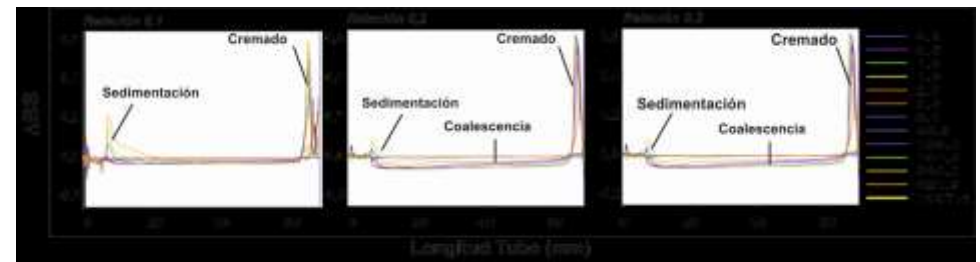


Figura 1: Perfiles Delta Backscattering. Pectina 1% m/m. Escala de tiempo en horas

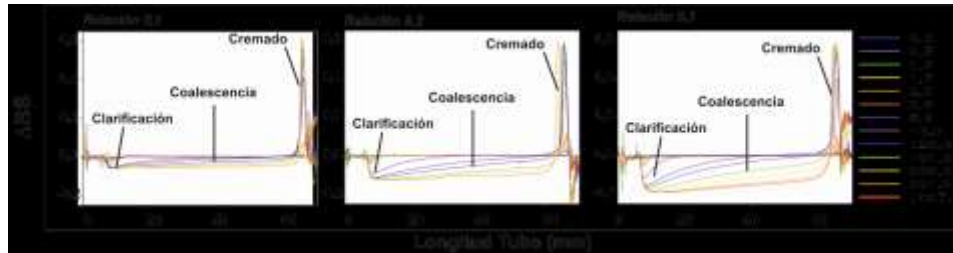


Figura 2: Perfiles Delta Backscattering. Pectina 2% m/m. Escala de tiempo en horas

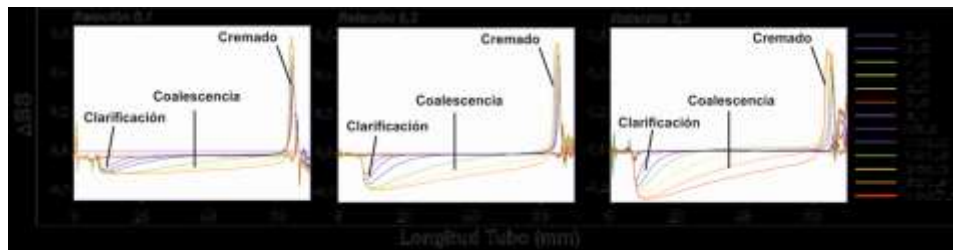


Figura 3: Perfiles Delta Backscattering. Pectina 3% m/m. Escala de tiempo en horas

Reología

En la **Figura 4**, se muestra el esfuerzo de corte en función de la velocidad de deformación para las emulsiones acuosas de pectina y ceras de girasol. Es posible observar una relación lineal entre estas dos variables. El modelo de potencia de Oswald de Weale $\tau = K\dot{\gamma}^n$ (donde τ es el esfuerzo de corte, $\dot{\gamma}$ es la velocidad de deformación, K es el índice de consistencia y n es el índice de comportamiento del fluido) fue el más apropiado para explicar el

comportamiento reológico de las emulsiones para el rango de velocidades de deformación $\dot{\gamma}$ usado ($0.1 - 100 \text{ s}^{-1}$). Los valores del índice de comportamiento del fluido (n) fueron cercanos a 1, indicando una aproximación a fluidos newtonianos. La adición de ceras de girasol para cada concentración de pectina implicó un incremento en el esfuerzo de corte de las muestras, excepto para la emulsión con 1% m/m de pectina y relación cera/pectina de 0.1, donde se observa una disminución en el esfuerzo de corte respecto al blanco de pectina (**Figura 4-1**). Las viscosidades aparentes obtenidas en el modelo de la potencia se muestran en la **Tabla 1**. El incremento en el contenido de ceras resultó en valores más altos de viscosidad ($p < 0.05$) especialmente para la concentración más baja de pectina (1% m/m), lo que no fue tan evidente para las muestras con 3% y 2% m/m de pectina.

Tabla 1: Viscosidad aparente de emulsiones acuosas de pectina y ceras de girasol, $T = 25^\circ\text{C}$

PECTINA (m/m)	%	RELACIÓN CERA/PECTINA (g cera/g pectina)		
		0,1	0,2	0,3
1		0,0076 ± 0,0007 ^a	0,0086 ± 0,0000 ^{ab}	0,0098 ± 0,0003 ^b
		0,0301 ± 0,0009 ^a	0,0296 ± 0,0003 ^a	0,0325 ± 0,0002 ^b
3		0,0731 ± 0,0002 ^a	0,0773 ± 0,0020 ^b	0,0777 ± 0,0002 ^b

Valores promedios ± desviación estándar, $n=2$. Valores en la misma fila seguidos por diferentes letras son significativamente diferentes ($p < 0.05$) por el Test de Fisher.

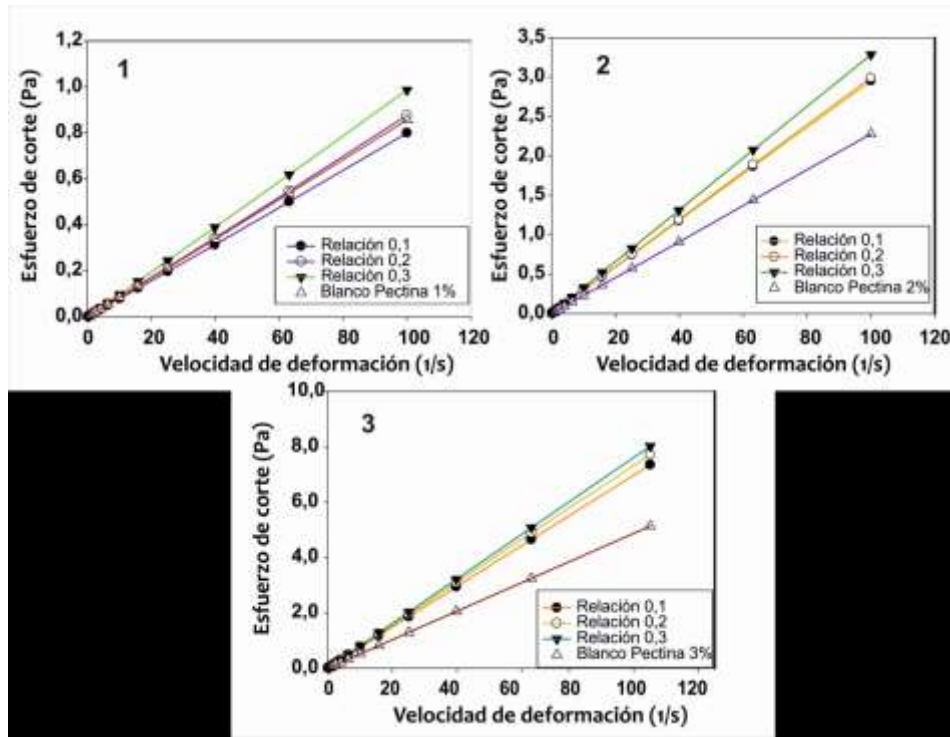


Figura 4: Esfuerzo de corte de emulsiones acuosas de pectina y ceras de girasol vs velocidad de deformación, T = 25 °C. (1) Pectina 1% m/m (2) Pectina 2% m/ m (3) Pectina 3% m/m

Microscopía

En la **Figura 5** se muestran las microfotografías de luz polarizada obtenidas. En todas las emulsiones fue posible observar cristales de cera y aglomeraciones de los mismos, encontrándose una distribución más uniforme en la microfotografía de la emulsión

con 3% m/m de pectina y relación cera/pectina de 0,3 (**Figura 5-i**). El tamaño promedio de los cristales fue determinado mediante difracción laser. Las distribuciones de partículas fueron normal logarítmicas. La media geométrica de los diámetros de partículas se presenta en la **Tabla 2**. Los mismos estuvieron en el rango 3,68 - 5,08 μm . Es importante resaltar que el tamaño de partícula de las ceras incorporadas en la emulsión van a tener una incidencia en la efectividad para reducir la transferencia de vapor de agua una vez que el recubrimiento sea elaborado (Pérez-Gago y Krochta, 2001). Mc Hugh y Krochta (1994) confirmaron que los tamaños de partícula de lípidos en las emulsiones fueron similares a los encontrados en los recubrimientos elaborados a partir de éstas.

Tabla 2: Media geométrica diámetros de partículas de cristales de cera de emulsiones acuosas pectina y ceras de girasol

PECTINA % (m/m)	RELACIÓN CERA/PECTINA (g cera/g pectina)		
	0,1	0,2	0,3
1	4,79 ± 0,04 ^b	3,70 ± 0,02 ^a	3,68 ± 0,08 ^a
2	5,05 ± 0,02 ^b	4,73 ± 0,06 ^a	5,08 ± 0,06 ^b
3	4,74 ± 0,02 ^a	4,92 ± 0,03 ^b	4,74 ± 0,03 ^a

Valores promedios ± desviación estándar, n=6. Valores en la misma fila seguidos por diferentes letras son significativamente diferentes ($p < 0,05$) por el Test de Fisher.

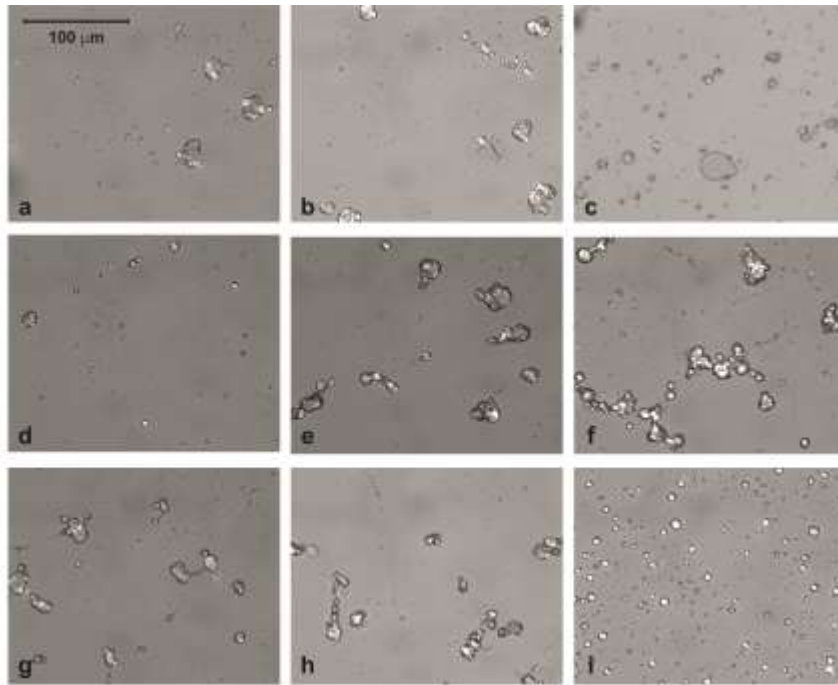


Figura 5: Microfotografías de luz polarizada. % Pectina /relación cera a pectina, (a) 1/0,1; (b) 1/0,2; (c) 1/0,3; (d) 2/0,1; (e) 2/0,2; (f) 2/0,3; (g) 3/0,1; (h) 3/0,2; (i) 3/0,3. Magnificación 400X.

En la **Figura 6** se presentan imágenes obtenidas por SEM de las emulsiones pectina/ceras, fue posible observar en las mismas una microestructura en forma de red, atribuida a la pectina, que sostiene y dispersa los cristales de ceras de girasol.

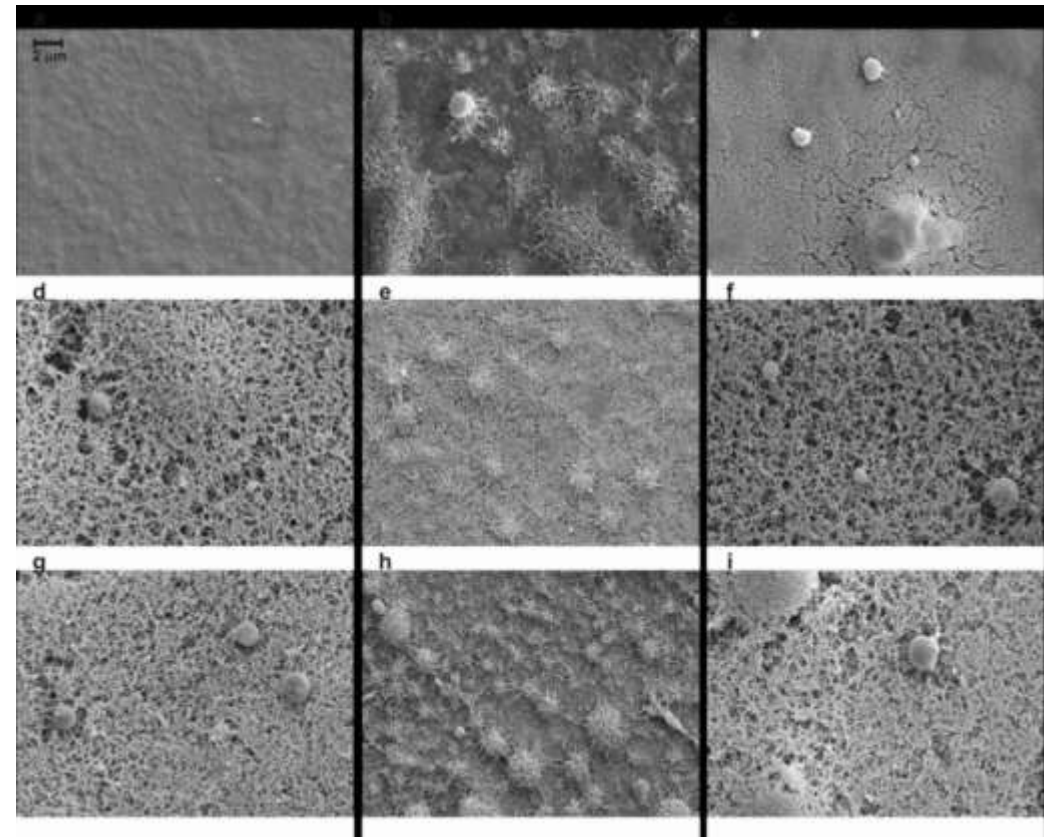


Figura 6: Imágenes de microscopía electrónica: % Pectina / relación cera a pectina. (a) 1/0,1, (b) 1/0,2, (c) 1/0,3, (d) 2/0,1, (e) 2/0,2, (f) 2/0,3, (g) 3/0,1, (h) 3/0,2, (i) 3/0,3. Magnificación 13000X.

CONCLUSIONES

El análisis de las propiedades físicas de emulsiones acuosas de pectina y ceras de girasol para la elaboración de recubrimientos comestibles es de gran importancia debido a que de ello dependen sus características finales de protección al alimento. Con el aumento de la proporción de ceras de girasol en las emulsiones se observó la disipación del fenómeno de sedimentación y el incremento de los fenómenos de cremado y coalescencia. El análisis reológico indicó un incremento en la viscosidad y en el esfuerzo de corte de las emulsiones con la adición de ceras. El análisis de las microfotografías reveló la presencia de los cristales de cera en la emulsión y una buena dispersión atribuida a la capacidad emulsificante de la pectina, lo cual es importante en la permeabilidad posterior del recubrimiento a elaborar.

BIBLIOGRAFÍA

- Bäumler E, Carelli A, Martini S. 2013. Physical Properties of Aqueous Solutions of Pectin Containing Sunflower Wax. *J Am Oil Chem Soc.*, 90:791–802.
- Comas DI, Wagner JR, Tomás MC. 2006. Creaming stability of oil in water (O/W) emulsions: Influence of pH on soybean protein–lecithin interaction. *Food Hydrocolloids*, 20:990-996.
- Debeaufort F, Voilley A. 1995. Effect of surfactants and drying rate on barrier properties of emulsified edible films. *International Journal of Food Science and Technology*, 30:183-190.
- Debeaufort F, Quezada-Gallo JA, Voilley A. 1998. Edible Films and Coatings: Tomorrow's Packagings: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38(4):299–313.
- Guilbert S, Gontard N, Cuq B. 1995. Technology and Applications of Edible Protective Films. *Packaging Technology and Science*, 8: 339-346.
- Ibanoglu E. 2002. Rheological behaviour of whey protein stabilized emulsions in the presence of gum arabic. *Journal of Food Engineering* 52: 273–277
- Lemarchand C, Couvreur P, Vauthier C, Costantini D, Gref R. 2003. Study of emulsion stabilization by graft copolymers using the optical analyzer Turbiscan. *International Journal of Pharmaceutics*, 254:77-82.
- Leroux J, Langendorff V, Schick G, Vaishnav V, Mazoyer J. 2003. Emulsion stabilizing properties of pectin. *Food hydrocolloids*, 17:455-462.

McClements DJ. 1999. Food Emulsions: principles, practice and techniques. New York: Ed. CRC Press. Pag. 185

McHugh T, Krochta JM. 1994. Dispersed phase particle size effects on water vapor permeability of whey protein-beeswax edible emulsion films. *Journal Food Processing and Preservation*, 18:173-188.

Mengual O, Meunier G, Cayre I, Puech K, Sanbre P. 1999. Characterisation of instability of concentrated dispersions by a new optical analyser: the TURBISCAN MA 1000. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 152:111-123.

Pan LG, Tomás MC, Añón MC. 2002. Effect of Sunflower Lecithins on the Stability of Water in Oil (W/O) and Oil in Water (O/W) Emulsions. *J. Surf. and Deterg*, 5:135-143.

Panchev I, Nikolova KR, Pashova S. 2009. Physical characteristics of wax-containing pectin aqueous solutions. *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials*, 9:1214-1217.

Pérez-Gago MB, Krochta JM. 2001. Lipid Particle Size Effect on Water Vapor Permeability and Mechanical Properties of Whey Protein/Beeswax Emulsion Films. *J. Agric. Food Chem.*, 49: 996-1002.

Schultz T H, Owens HS, Maclay WD. 1949. Permeability of pectinate films to water vapor. *J. Phys. Colloid Chem.*, 53:1320-1330.

DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE YERBA MATE COMPUESTAS

Cheminet G.¹, Baroni V.², Wunderlin D.A.², Di Paola Naranjo R.³

1: Universidad Nacional de Córdoba, CEQUIMAP-Facultad de Ciencias Químicas, Argentina.

2: Universidad Nacional de Córdoba-CONICET, ISIDSA-ICYTAC, Argentina.

3: Universidad Nacional de Córdoba-CONICET, Dto. Bioquímica Clínica/CIBICI, Facultad de Ciencias Químicas, Argentina.

gcheminet@fcq.unc.edu.ar

Resumen: La yerba mate *Ilex paraguariensis* Saint Hilaire es un cultivo de gran importancia socioeconómica regional en Argentina, y es la única especie autorizada para el consumo humano. Sobre la base de su composición, se ha sugerido que la ingestión de yerba mate podría ser una manera eficaz y económica para proporcionar antioxidantes a la dieta, que pueden proteger contra el efecto nocivo de los radicales libres, aumentando así el sistema de defensa del organismo. Entre sus beneficios podemos mencionar la protección contra la lipoperoxidación *in vitro* de LDL y la oxidación del ADN *in vivo*, y otros beneficios relacionados con el sistema cardiovascular. Si bien existen antecedentes sobre la caracterización de polifenoles en yerba mate, no existen datos sobre la composición polifenólica en yerba mate compuesta, ni de su aporte a la capacidad antioxidante. Por este motivo, el presente trabajo propuso como objetivo evaluar el perfil polifenólico de la yerba

mate compuesta comparada con la yerba mate común de distintas marcas comerciales.

Palabras claves: *Ilex paraguariensis*, yerba mate compuesta, antioxidantes, polifenoles, HPLC-DAD-MS/MS

Abstract: Yerba mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire) is a plant of great socio-economic importance in Argentina and the only kind of mate authorized for human consumption. Based on its composition, it has been suggested that the ingestion of yerba mate may be an effective and economical way to provide antioxidants to the diet, since they help protect against the harmful effects of free radicals, thus enhancing the defense system of the organism. Benefits associated with yerba mate include protection against *in vitro* lipid peroxidation of LDL and *in vivo* oxidation of DNA as well as cardiovascular benefits. While there are many research studies on the characterization of polyphenols in yerba mate, there are no data available on the polyphenolic composition of yerba mate with herbal additives (*compuesta*), or their contribution to the antioxidant capacity. For this reason, the present study aimed at evaluating the phenolic profile of yerba mate with herbal additives in comparison with regular yerba mate of different brand names.

Key words: *Ilex paraguariensis*, yerba mate with herbal additives, antioxidants, polyphenols, HPLC-DAD-MS/MS

INTRODUCCIÓN

La yerba mate *Ilex paraguariensis* Saint Hilaire es un cultivo de gran importancia socioeconómica regional en Argentina y es la única especie autorizada para el consumo. La misma es utilizada para obtener una de las principales bebidas ricas en antioxidantes, consumidas en varios países de América del Sur. Ha sido demostrado que el nivel de eficacia antioxidante del mate verde e infusiones de yerba mate, es comparable a la del butilhidroxitolueno (BHT) (Bastos *et al.* 2006). da Silva *et al.* (2008) describen al extracto de yerba mate como una fuente de compuestos fenólicos, que contiene actividad antioxidante *in vitro*, prácticamente todas las vitaminas y minerales necesarios para el organismo y que puede reducir el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares. Además, Bixby *et al.* (2005) encontraron que *I. paraguariensis* es un antioxidante más potente que el vino tinto, té verde y té negro.

En este sentido, la actividad antioxidante de yerba mate es atribuida especialmente a la presencia de compuestos fenólicos. Bravo *et al.* (2007) realizaron una comparación del contenido de polifenoles totales y la actividad antioxidante *in vitro* (FRAP y ABTS) de las infusiones de yerba, con bebidas comerciales (jugo de naranja, té verde, té negro, vino blanco y rosado), encontrando que el contenido de PT (polifenoles totales) de la yerba era similar al encontrado en té y jugo de naranja, mientras que la actividad antioxidante era ligeramente superior a la de los vinos, jugos de naranja y té negro, pero inferior a la de té verde. Los extractos de yerba mate son ricos principalmente en ácido clorogénico, presente también en otros alimentos y bebidas

como café, frutilla, ananá, manzana, girasol y arándano. El ácido clorogénico y sus derivados actúan como secuestradores de radicales libres y metales, interfieren en la absorción de glucosa y regulan la expresión de los genes ligados a las enzimas antioxidantes, entre otras características con acción biológica (Markowicz-Bastos *et al.*, 2007).

Es importante mencionar que la yerba mate es un estimulante del sistema nervioso central. Los efectos metabólicos de la yerba mate parecen incluir la capacidad de mantener la descomposición aeróbica de los carbohidratos que ocurre durante el ejercicio físico practicado durante largos períodos de tiempo. Como resultado, se consumen más calorías, aumentando así la eficiencia cardíaca y retrasando la acumulación de ácido láctico.

Sobre la base de su composición, se ha sugerido que la ingestión de yerba mate podría ser una manera eficaz y económica para proporcionar antioxidantes a la dieta, que puede proteger contra el efecto nocivo de los radicales libres, aumentando así el sistema de defensa del organismo. Esto incluye actividades de propulsión coleréticas e intestinal, para beneficiar el sistema cardiovascular, la protección contra la lipoperoxidación *in vitro* de LDL y la oxidación del ADN *in vivo* (González de Mejía *et al.*, 2010).

En la actualidad se ha incrementado el consumo de yerba mate con agregado de mezclas de hierbas sapidoaromáticas y saborizantes, denominadas "yerba mate compuesta". De esta forma, los productores buscan aportar otras propiedades a las ya reconocidas en la yerba mate. Entre las más utilizadas, destacan la menta, poleo, peperina, boldo, melisa y cedrón. Si bien existen antecedentes sobre la caracterización de los polifenoles de yerba mate, no existen datos de la composición polifenólica de yerba

mate compuesta, ni de su aporte a la capacidad antioxidante. Por este motivo, el presente trabajo propuso como objetivo evaluar el perfil polifenólico de yerba mate compuesta de distintas marcas comerciales comparado con el perfil de una yerba mate común.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras

En el presente estudio se utilizaron muestras de yerba mate adicionadas con hierbas sápidoaromáticas y una yerba mate sin agregado de hierbas, como se describe en la **Tabla 1**.

Tabla 1: Composición de las muestras utilizadas (declarada en rótulo).

Muestra	Composición
1	Yerba mate
2	Yerba mate, poleo, peperina, menta y saborizante
3	Yerba mate, boldo y saborizante de menta
4	Yerba mate y cedrón
5	Yerba mate, poleo, peperina, menta y saborizante
6	Yerba mate, poleo, peperina, menta y melisa
7	Yerba mate, boldo y menta
8	Yerba mate, boldo y menta

Preparación de infusiones y extractos

Las infusiones de yerba mate se prepararon de acuerdo al método de Bravo *et al.* (2007), mezclando 1,5 g de hojas de yerba mate secas y trituradas con 150 mL de agua ultrapura, y se mantuvo en ebullición durante 5 minutos. Se dejó enfriar la muestra a temperatura ambiente, se filtró y posteriormente se llevó a 150 mL de volumen final con agua ultrapura.

Los extractos de yerba mate se obtuvieron mezclando 1 g de las muestras trituradas con 40 mL de HCl 16 mM en 50% de metanol (v/v), con agitación durante 1 h a temperatura ambiente. Se centrifugó durante 15 min a 3000 *g* y se separó el sobrenadante. Posteriormente, el precipitado se extrajo con 40 mL de una mezcla de acetona-agua (70:60) con agitación constante durante 1 h a temperatura ambiente. Nuevamente se centrifugó durante 15 min a 3000 *g* y se mezclaron los sobrenadantes llevándolos a un volumen final de 100 mL con agua ultrapura.

Todas las infusiones y extractos se realizaron por duplicado y se almacenaron a -80 °C hasta el momento de realizar los análisis.

Identificación y cuantificación de polifenoles individuales

El perfil de polifenoles de las muestras de yerba mate se determinó utilizando un equipo de HPLC (Agilent Technologies), provisto de una bomba de gradiente binario, desgasificador de solventes e inyector automático. La separación cromatográfica se realizó en una columna de fase reversa C18 (Phenomenex, Torrance, CA, EEUU; 5mm, 250mm, 4.60 mm i.d.), termostaticada a 35 °C. La fase móvil consistió en un gradiente de solventes (solvente A: ácido fórmico 0,5% v/v y solvente B: ácido fórmico 0,5% v/v en metanol). El flujo aplicado fue de 0,4 mL/min y el

volumen de inyección fue de 40 μ L. El sistema de HPLC se acopló a un detector con arreglo de diodo (Agilent G1315 C Starlight DAD) seguido de un espectrómetro de masas QTOF (micrOTOF-Q11 Series, Bruker), equipado con una fuente de ionización por electrospray (ESI). Las longitudes de onda preferentes fueron 280, 320 y 350 nm, si bien se registraron los espectros UV-Vis desde 200 hasta 600 nm. Las condiciones de trabajo de la fuente de ionización fueron las siguientes: voltaje del capilar 4500 V; presión del gas de nebulización 4,0 bar; flujo del gas de secado 8,0 L/min y temperatura de secado 180°C. N₂ y Ar fueron utilizados como gases de nebulización y de colisión, respectivamente. Los espectros de MS fueron registrados en modo negativo en un intervalo de 100 a 1000 m/z . El detector de MS fue programado para realizar un barrido MS/MS de los tres iones más abundantes, utilizando como energía de colisión 13,0 eV. La adquisición de datos y procesamiento se llevaron a cabo utilizando los programas Compass Version 3.1 y DataAnalysis Version 4.0, respectivamente.

Análisis estadístico

Los resultados fueron expresados como la media \pm desviación estándar, obtenida de un mínimo de dos experimentos independientes. Los análisis estadísticos univariados y multivariados se realizaron con ayuda del programa Infostat (2008).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La identificación y cuantificación de compuestos polifenólicos se llevó a cabo en infusiones y extractos de yerba mate compuestas y yerba mate común. Los tiempos de retención, espectros UV-Vis y espectros de MS fueron los criterios utilizados para la identificación de cada compuesto, comparados a su vez con los de estándares disponibles. De esta forma fue posible identificar 23 compuestos fenólicos, los cuales se detallan en la **Tabla 2**.

Isómeros de ácido cafeoilquínico

Los compuestos 3, 6, 12 y 13 presentaron espectros UV-Vis similares, con un máximo de absorción a 327 nm y un hombro a 297 nm, característico de derivados del ácido cafeico (Bravo *et al.*, 2007). Además, el espectro de masas de dichos compuestos fue similar, presentando un ión $[M-H]^-$ con una relación m/z de 353 y fragmentos de 191 y 179 m/z . A su vez, el compuesto 6 fue identificado como ácido clorogénico (ácido 3-*O*-cafeoilquínico), por comparación de su tiempo de retención con el estándar correspondiente. Los fragmentos de m/z 191 y 179 corresponden al ácido quínico desprotonado y ácido cafeico, respectivamente. Considerando el perfil de elución de los compuestos y por comparación con datos bibliográficos (Bravo *et al.*, 2007), los compuestos 3 y 12 fueron identificados como ácido 5-*O*-cafeoilquínico (ácido neoclorogénico) y ácido 4-*O*-cafeoilquínico (ácido criptoclorogénico), respectivamente.

Tabla 2: Identificación de compuestos polifenólicos.

Características cromatográficas, iones moleculares y fragmentos obtenidos en MS² para muestras de yerba mate. (rt: tiempo de retención; [M-H]⁻: ión molecular; λ_{max}: longitud de onda máxima.)

Compuesto	rt (min)	λ _{max}	[M-H] ⁻ m/z	Fragmentos m/z	Estructura propuesta
1	6,7	n.d.	341	179	Ácido dicafeico I
2	7,1	224	191	---	Ácido quínico
3	11,7	327, 297sh	353	191, 179	Ácido neoclorogénico
4	12,1	323, 295sh	341	179, 281	Ácido dicafeico II
5	12,3	323, 295sh	341	179, 281	Ácido dicafeico III
6	12,6	327, 297sh	353	191, 179	Ácido clorogénico
7	13,7	273	335	161, 173, 179	Ácido cafeoilsiquímico
8	14,1	324, 296sh	367	191, 173	Ácido feruloilquínico I
9	14,2		179	---	Ácido cafeico

10	15,1	326, 296sh	515	353, 191, 179	Ácido dicafeoilquínico I
11	15,4	326, 296sh	515	353, 191	Ácido dicafeoilquínico II
12	15,5	327, 297sh	353	191, 179	Ácido criptoclorogénico
13	18,1	327, 297sh	353	191, 179	Ácido cafeoilquínico
14	18,1	326, 296sh	515	353, 173, 179	Ácido dicafeoilquínico III
15	18,3	331	609	301	Quercetina-rutinósido
16	18,6	330	463	301	Quercetina-glicósido
17	20	329, 297sh	559	397, 173	Ácido cafeoilsinapilquínico
18	20,4	324, 296sh	367	193	Ácido feruloilquínico II
19	20,4	332, 298sh	529	367, 173	Ácido cafeoilferuloilquínico
20	20,6	332, 298sh	529	353, 367, 173	Ácido cafeoilferuloilquínico II
21	20,8	266	447	285	Kaempferol-glicósido
22	21,3	326, 294sh	677	515	Ácido tricafeoilquínico
23	23,7	226	301	179	Quercetina

Isómeros del ácido dicafeoilquínico

Los compuestos 10, 11 y 14 presentaron un espectro UV-Vis similar al del ácido clorogénico, aunque el ión $[M-H]^-$ presentó una relación m/z 515. La fragmentación del ión molecular generó un ión de m/z 353 en todos los casos, indicativo de la pérdida de una molécula de ácido cafeico deshidratado $[M-\text{ácido cafeico}-H_2O]^-$, revelando la presencia de un ácido dicafeoilquínico. A su vez, se observaron los fragmentos de m/z 191 y 179, característicos del ácido quínico y cafeico, como se mencionó anteriormente.

Isómeros del ácido tricafeoilquínico

A un tiempo de retención de 21,3 min se encontró un compuesto minoritario con un espectro UV-Vis característico de un derivado del ácido cafeoilquínico, con un ión molecular desprotonado de m/z 677 y un fragmento de m/z 515, sugiriendo la presencia de un ácido tricafeoilquínico. El fragmento de m/z 515 se formaría con la pérdida de una molécula de ácido cafeico deshidratado (-162), como fue descrito para los ácidos dicafeoilquínicos. Ácidos tricafeoilquínicos han sido previamente encontrados en yerba mate (Bravo *et al.*, 2007).

Derivados de ácidos hidroxicinámicos

En extractos e infusiones, se detectaron compuestos con espectros UV-Vis similares al del ácido clorogénico. Dichos

compuestos mostraron iones moleculares desprotonados de m/z 367, con fragmentos de m/z 193, 191 y 173, los cuales podrían ser identificados como isómeros del ácido feruloilquínico (compuestos 8 y 18). Los fragmentos m/z 191 y 173 corresponden al ácido quínico desprotonado y ácido quínico deshidratado respectivamente, mientras que el fragmento m/z 193 corresponden al ácido ferúlico.

Los compuestos 19 y 20 poseen un $[M-H]^-$ de m/z 529 y ambos generaron un fragmento de m/z 367, que se origina por la pérdida de una molécula de ácido cafeico deshidratado $[M-\text{ácido cafeico}-H_2O]^-$. El fragmento con m/z 353 es el resultado de la pérdida del residuo feruloil (-176), mientras que el fragmento con m/z 173 corresponde a la pérdida del ácido quínico deshidratado (-191), como se mencionó anteriormente. Asimismo, con estas consideraciones y por comparación con datos bibliográficos (Dugo *et al.*, 2009), ambos compuestos pueden ser propuestos como isómeros del ácido cafeoilferuloilquínico.

El compuesto 17 mostró un ión molecular $[M-H]^-$ con una m/z 559, así como fragmentos de m/z 397 y 173. El mismo fue identificado como ácido cafeoilcinapilquínico, siendo el primer fragmento concordante con la pérdida de ácido cafeico deshidratado y el segundo con la de ácido quínico deshidratado (Bastos *et al.*, 2006).

Dímeros del ácido cafeico

El espectro UV-Vis de los compuestos 4 y 5 muestran una λ_{\max} a 323 nm, característico del ácido cafeico, y un hombro a 295 nm, concordante con derivados del ácido quínico. En cuanto a la

detección por MS, ambos compuestos generaron un ión molecular $[M-H]^-$ con m/z 341 y fragmentos de m/z 281 y 179. El primero de estos fragmentos se genera probablemente por la pérdida de ácido acético (CH_3COO^- ; -60) del ión molecular, lo que sugiere que al menos uno de los dos grupos cinamoil no se encuentra involucrado en la formación del dímero. El ácido cafeico es detectado como un fragmento (m/z 179) en ambos compuestos. Sólo con esta información disponible, no es posible afirmar la identificación de dichos compuestos, debido a que podrían corresponder a ácidos cafeicos glicosilados, o bien ser un producto de la condensación de dos unidades de ácido cafeico. Carini *et al.* (1998) describieron dos cafeoilglicósidos en yerba mate, aunque a un t_R mayor que los isómeros de ácido clorogénico, y es esta razón la que lleva a concluir que probablemente no se trate de esos compuestos en este caso. Por otro lado, no se encontraron residuos libres de ácido cafeico en las muestras, mientras que la unión éster del ácido cafeico con los grupos hidroxilos del ácido quínico es muy común en la mayoría de los derivados de ácidos hidroxicinámicos presentes en yerba mate. Como conclusión, los compuestos 1, 4 y 5 podrían ser propuestos como isómeros del ácido dicafeico, siendo necesaria una futura investigación para elucidar la estructura de estos compuestos fenólicos.

El compuesto 9 ha sido identificado como ácido cafeico, por comparación de los tiempos de retención, espectro UV-Vis y espectro de MS con los obtenidos a partir del estándar correspondiente.

Flavonoles

El compuesto 15 fue identificado como quercetina-3-*O*-rutinosido (rutina), ya que en su espectro muestra un ión molecular $[M-H]^-$ de m/z 609 y un fragmento de m/z 301, concordante con la pérdida de una rutinoso (ramnosa-glucosa; -308). La identificación se confirmó mediante la comparación con el estándar de rutina, obteniendo idénticos tiempos de retención, espectro UV-Vis y espectro de masas generados bajo las mismas condiciones cromatográficas.

El compuesto 16 mostró un ión $[M-H]^-$ de m/z 463, así como un fragmento de m/z 301, producto de la pérdida de un resto de azúcar (hexosa deshidratada; -162) para producir el ion quercetina. La identificación de este compuesto ha sido realizada por comparación del espectro UV-Vis y espectro de masas de un testigo comercial de isoquercetina. El compuesto 21, que presenta un máximo de absorbancia a 266 nm, es probablemente kaempferol glicosilado en la posición 3, debido a que presenta un espectro de masas con un ion molecular desprotonado de m/z 447 y un fragmento de m/z 285. Mediante comparación con datos bibliográficos del espectro de masas así como del patrón de fragmentación, se pudo identificar como kaempferol-3-glicósido (Dugo *et al.*, 2009).

El compuesto 7 muestra un espectro UV-Vis con un máximo de absorción a 273 nm. El espectro de masas mostró un ión $[M-H]^-$ con m/z 335 coincidente con la pérdida de una molécula de H_2O del ácido cafeoilquínico; y un fragmento mayoritario con m/z 161, que se correspondería con el ácido cafeico deshidratado. El ácido quínico deshidratado (ácido siquímico) al ser esterificado con el ácido cafeico produciría el ácido cafeoilsiquímico.

Finalmente, el compuesto 23 ha sido identificado como el aglicón de quercetina, por comparación del tiempo de retención, espectro UV y espectro de MS con el estándar correspondiente, bajo las mismas condiciones cromatográficas.

Cuantificación de compuestos polifenólicos

Las **Figuras 1** y **2** muestran los resultados obtenidos de la cuantificación de compuestos polifenólicos en extractos e infusiones de yerba mate, respectivamente. En dichas figuras se puede observar que los compuestos mayoritarios fueron los ácidos clorogénicos (ácido neoclorogénico, ácido clorogénico y ácido criptoclorogénico), cuyos valores se encontraron en un intervalo entre 11,38 y 17,32 mg/g.

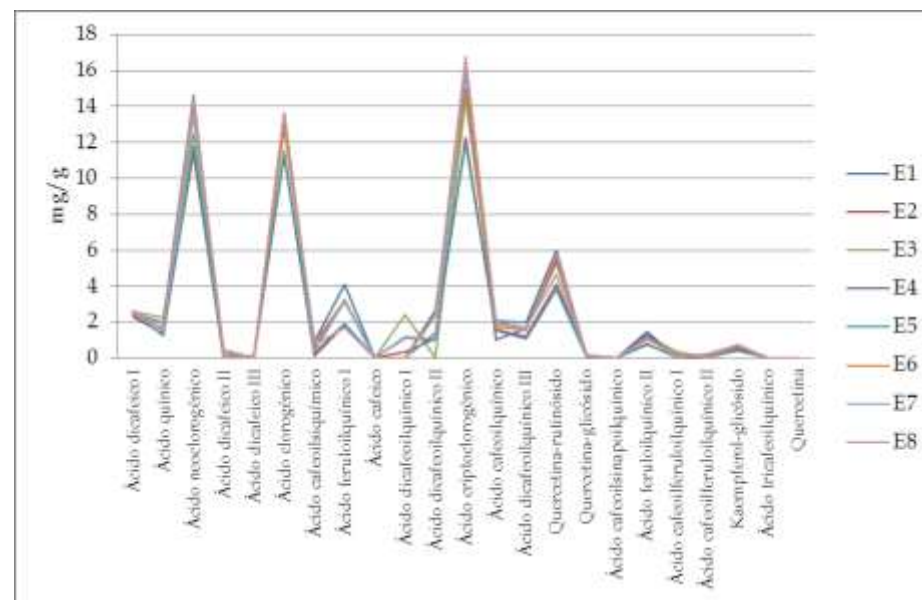


Figura 2. Perfiles de compuestos polifenólicos en extractos de yerba mate.

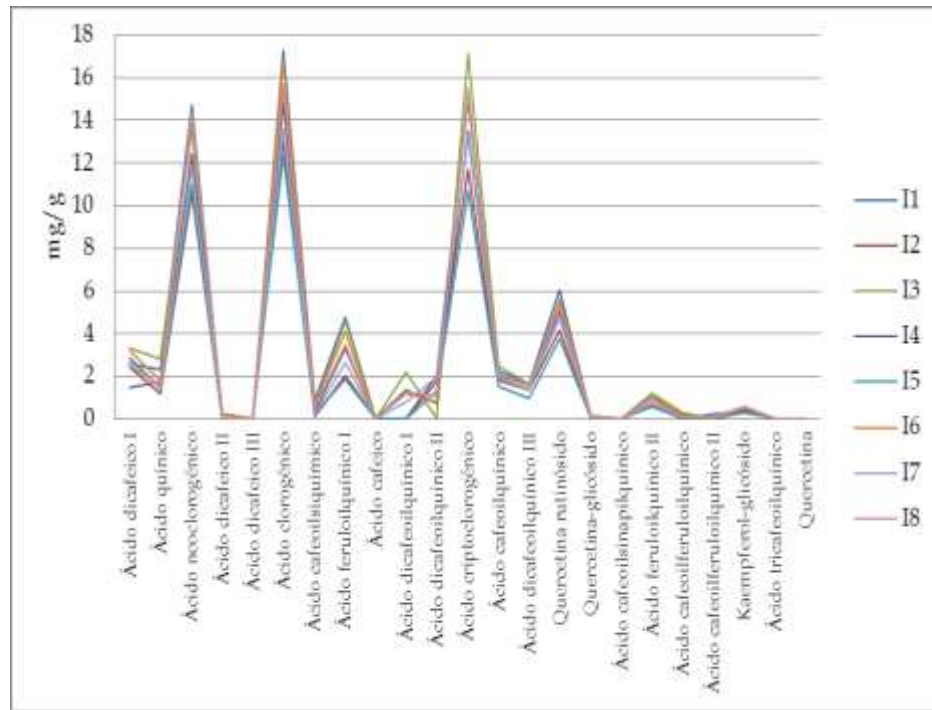


Figura 3: Perfiles de compuestos polifenólicos en infusiones de yerba mate.

Con el fin de evaluar si existen diferencias significativas entre los perfiles de polifenoles obtenidos por los dos métodos de extracción realizados, se aplicó un análisis de la varianza (ANAVA). No se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p=0,75$) entre los compuestos polifenólicos extraídos en los extractos orgánicos y en las infusiones. Para complementar lo mencionado anteriormente, se aplicó un análisis de regresión lineal para el contenido de los compuestos

fenólicos encontrados en los dos tipos de muestras, y se observó una alta relación entre los mismos con un valor de $R^2=0,97$.

El contenido de ácido clorogénico obtenido en el presente trabajo (entre 10,42 y 18,43 mg/g), se encuentra en concordancia con los reportados por Plagiosa *et al.* (2010), quienes encontraron valores entre 16 mg/g y 29,30 mg/g de ácido clorogénico en extractos metanólicos de hojas y palos de yerba mate, respectivamente.

Por otra parte, resulta interesante comparar el contenido de compuestos polifenólicos con otras bebidas consumidas habitualmente, como por ejemplo, el café. Monteiro *et al.* (2012) cuantificaron ácidos clorogénicos en cuatro cultivares de *Coffea arabica* obteniendo valores en un rango entre 35,93-39,13 mg/g de ácido clorogénico; 0,46-0,57 mg/g de ácido neoclorogénico y 0,65-0,78 mg/g de ácido criptoclorogénico. Rodrigues *et al.* (2013), encontraron valores de ácidos clorogénicos entre 14,95 y 18,70 mg/g al analizar café soluble, mostrando una disminución importante con respecto a los granos de café. En comparación, se observaron valores más elevados en los extractos e infusiones de yerba mate aquí analizados, ya que se encontraron entre 9,16 y 16,08 mg/g para ácido neoclorogénico y entre 8,26 y 18,24 mg/g para el criptoclorogénico.

La importancia de estos resultados radica en el hecho de que los ácidos clorogénicos son objeto de estudio en la actualidad, ya que poseen importantes propiedades biológicas. En este sentido, el ácido clorogénico demostró un efecto protector frente a la oxidación de LDL humana, un paso clave en la formación de placas ateromatosas (Morton *et al.*, 2000; Andreasen *et al.*, 2001), así como efecto anticarcinogénico en modelos animales (Tanaka *et al.*, 1993; Huang *et al.*, 1988).

Con el objetivo de establecer si existen diferencias en la composición entre las muestras de yerba mate estudiadas, se aplicaron análisis estadísticos multivariados. Para ello, se agruparon los compuestos polifenólicos de acuerdo a su estructura química en ocho subfamilias: ácido quínico, ácido cafeoilsiquímico, ácidos dicafeicos, ácidos cafeoilquínicos, ácidos feruloilquínicos, ácidos dicafeoilquínicos, ácidos cafeoilferuloilquínicos y flavonoles.

En primer lugar, se realizó un análisis exploratorio para así evaluar si los perfiles fenólicos son capaces de discriminar entre las variedades de yerba mate estudiadas. El mismo se llevó a cabo mediante un análisis de componentes principales, tanto para extractos como para infusiones. Los autovectores (e1 y e2) arrojados por el análisis indican los coeficientes con que cada variable original fue ponderada para conformar la Componente Principal 1 (CP1) y Componente Principal 2 (CP2). Por lo tanto, se puede decir que los valores absolutos de e1 y e2 proporcionan la importancia de cada variable en las CP1 y CP2, respectivamente. En la **Tabla 3** se puede observar que los flavonoles y ácidos dicafeoilquínicos son los que más aportan a la CP1, seguidos por los grupos de ácido quínico, cafeoilsiquímico, cafeoilquínicos, cafeoilferuloilquínicos y cafeoilquínicos quienes aportan de manera similar a dicha componente. En oposición, los dicafeicos poseen un valor absoluto elevado del coeficiente e2, lo que indicaría que estos compuestos explican la variabilidad de las muestras en la CP2.

En un gráfico de biplot (datos no mostrados) se pudo observar que algunos de los extractos se encuentran separados y caracterizados por diferentes grupos de compuestos fenólicos. Así, los extractos E6 y E7 se caracterizan por los ácidos dicafeicos; E1, E3, E4 y E8 por ácido quínico, dicafeoilquínicos,

cafeoilsiquímico y flavonoles. Por otra parte, los extractos E2 y E5 no se encuentran caracterizados por ninguno de los grupos de compuestos fenólicos. Esto puede deberse a que poseen menor concentración total de los compuestos fenólicos comparados con los otros extractos.

Tabla 3: Autovectores e1 y e2 para extractos de yerba mate.

Variables	e1	e2
Ácido quínico	0,32	-0,34
Ácido cafeoilsiquímico	0,34	-0,20
Ácidos dicafeicos	0,14	0,73
Ácidos cafeoilquínicos	0,39	0,14
Ácidos feruloilquínicos	0,38	0,34
Flavonoles	0,41	-0,30
Ácidos dicafeoilquínicos	0,41	-0,17
Ácidos cafeoilferuloilquínicos	0,36	0,25

Para el caso de las infusiones, en la **Tabla 4** se puede observar que los ácidos cafeoilquínicos, feruloilquínicos, flavonoles y ácidos cafeoilferuloilquínicos aportan de manera similar a la CP1 (75,15%), seguidos por los ácidos quínico y cafeoilsiquímico. En oposición, los ácidos dicafeicos poseen un valor elevado de e2 respecto a los demás compuestos, lo que indicaría que estos ácidos explican la variabilidad de las muestras en la CP2 (14,6%). En el análisis de componentes principales las infusiones también se encontraron caracterizadas por diferentes grupos de compuestos fenólicos: I1 e I3 por flavonoles, ácidos cafeoilferuloilquínicos, feruloilquínicos y cafeoilquínicos;

mientras que las infusiones I2, I4 e I5 presentaron bajas concentraciones de dichos compuestos.

Tabla 4: Autovectores e1 y e2 para infusiones de yerba mate.

Variables	e1	e2
Ácido quínico	0,34	0,21
Ácido cafeoilquímico	0,35	-0,02
Ácidos dicafeicos	0,14	0,83
Ácidos cafeoilquínicos	0,40	0,00
Ácidos feruloilquínicos	0,40	0,03
Flavonoles	0,40	-0,14
Ácidos dicafeoilquínicos	0,29	-0,50
Ácidos cafeoilferuloilquínicos	0,41	0,02

CONCLUSIONES

En el presente estudio, un total de 23 compuestos fenólicos han sido identificados y cuantificados mediante HPLC-DAD-MS/MS (Q-TOF) en extractos orgánicos e infusiones de ocho variedades comerciales de yerba mate. La mayoría de estos compuestos pertenecen a la familia de los ácidos cafeoilquínicos, siendo la yerba mate un producto rico en ácidos clorogénicos principalmente.

Los extractos E6 y E7 se caracterizaron por la presencia de los ácidos dicafeicos; E1, E3, E4 y E8 por ácido quínico, dicafeoilquínicos, cafeoilquímico y flavonoles. Adicionalmente, I1 e I3 se encontraron caracterizados por flavonoles, ácidos cafeoilferuloilquínicos, feruloilquínicos y cafeoilquínicos; mientras que las infusiones I2, I4 e I5 presentaron bajas concentraciones de dichos compuestos.

Adicionalmente, se observó una alta correlación entre el contenido de PT de infusiones y extractos orgánicos. Esto indica que en la forma habitual de consumo de yerba mate ocurre una extracción eficiente y satisfactoria de los mismos, haciendo un aporte significativo de antioxidantes a la dieta. Cabe destacar que el conocimiento de la composición individual de polifenoles en yerbas compuestas es de importancia debido a que cada compuesto puede presentar propiedades fisiológicas diferentes, así como el aporte a la actividad antioxidante de dicho producto.

BIBLIOGRAFÍA

- Andreasen MF, Landbo AK, Christensen LP, Hasen A, Meyer AS. 2001. Antioxidant effects of phenolic rye (*Secale cereal L.*) extracts monomeric hydroxycinnamates, and ferúlico acid dehydrodimers on human low-density proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 49(8): 4090-4096.
- Bastos DHM, Ishimoto EY, Marques MOM. 2006. Essential oil and antioxidant activity of green mate and mate tea (*Ilex paraguariensis*) infusions. *Journal Food Composition and Analysis*; 19(6-7): 538-543.
- Bixby M, Spieler L, Menini T, Gugliucci A. 2005. *Ilex paraguariensis* extracts are potent inhibitors of nitrosative stress: A comparative study with green tea and wines using a protein nitration model and mammalian cell cytotoxicity. *Life Scientific*; 77(3): 345-358.
- Bravo L, Luis G, Lecumberri E. 2007. LC/MS characterization of phenolic constituents of mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hil.) and its antioxidant activity compared to commonly consumed beverages. *Food Research International*; 40(3): 393-405.
- Carini M, Facino RM, Aldini M, Calloni M, Colombo L. Characterization of phenolic antioxidants from mate (*Ilex paraguariensis*) by liquid chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Ra Com Mass Spect.* 1998; 12: 1813-1819.
- da Silva EL, Neiva TJC, Shirai M. 2008. Acute ingestion of yerba mate infusion (*Ilex paraguariensis*) inhibits plasma and lipoprotein oxidation. *Food Research International*; 41(10): 973-979.

Dugo P, Cacciola F, Donato P, Assis-Jacques R, Bastos-Caramão E, Mondello L. 2009. High efficiency liquid chromatography techniques couples to mass spectrometry for the characterization of mate extracts. *Journal of Chromatography A*; 1216 (43): 7213-7221.

González de Mejía E, Sonj YS, Heck CI, Ramírez-Mares MV. 2010. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): Phenolics, antioxidant capacity and in vitro inhibition of colon cancer cell proliferation. *Journal of Functional Foods*; 2(1): 23-34.

Huang MT, Smart RC, Wong CQ, Conney AH. 1988. Inhibitory effect of curcumin, chlorogenic acid, caffeic acid, and ferúlico acid on tumor promotion in mouse skin by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. *Cancer Research*; 48(21): 5941-5946.

Markowicz-Bastos DE, Moura de Oliveira D, Teixeira-Matsumoto RL, de Oliveira Carvalho P, Lima-Ribeiro M. 2007. Yerba maté: pharmacological properties, research and biotechnology. *Medicinal Aromatic Plant Science and Biotechnology*; 1: 37-46.

Monteiro MC, Farah A. 2012. Chlorogenic acids in Brazilian *Coffea Arabica* cultivars from various consecutive crops. *Food Chemistry*; 134(1): 611-614.

Morton LW, Cacetta RAA, Puddey IB, Croft KD. 2000. Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds: relevance to cardiovascular disease. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*; 27(3): 152-159.

Plagiosa CM, Vieira MA, Podestá R, Maraschin M, Bertello-Zeni AL, Amante ER et al. 2010. Methylxanthines, phenolic composition, and antioxidant activity of bark from residues from mate tree harvesting (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.). *Food Chemistry*; 122: 173-178.

Rodrigues NP, Bragagnolo N. 2013. Identification and quantification of bioactive compounds in coffee brews by HPLC-DAD-MSⁿ. *Journal of Food Composition and Analysis*; <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2013.09.002>.

Tanaka T, Kawamori T, Wang A, Suzui M, Okamoto K, Mori H. 1993. Inhibition of 4-nitroquinoline-1-oxide-induced rat tongue carcinogenesis by the naturally occurring plant phenolics caffeic, ellagic, chlorogenic and ferúlico acids. *Cardiology*; 14(7): 1321-1325.

RELACIÓN ENTRE PARÁMETROS OBJETIVOS Y SENSORIALES DE PANIFICADOS LAMINADOS. EFECTO DEL TIPO DE MATERIA GRASA

de la Horra A.E.¹, Steffolani M.E.¹, Barrera G.N.¹, Ribotta P.D.¹, León A.E.¹

1: ICYTAC-Universidad Nacional de Córdoba-CONICET, Córdoba Capital, Argentina.
anitadelahorra@agro.unc.edu.ar

Resumen: En Córdoba los panificados laminados salados (PLL), criollitos cordobeses, están entre los productos regionales más consumidos. Sin embargo, no hay estudios precedentes sobre la incidencia de la formulación en la calidad de estos productos. El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto de diferentes materias grasas (MG) sobre la calidad tecnológica y las características sensoriales de PLL y la relación entre los diferentes parámetros. Las masas-MG1 fueron las que menos se deformaron durante la compresión y la estructuración de las fases fue la más ordenada. El mayor carácter viscoso de MG1 le impidió fluir e irrumpir en la estructuración del sistema. MG3 fue poco viscosa y produjo masas con baja resistencia a la deformación y con una conformación interna poco estratificada. Los PLL-MG1 y PLL-MG2 mostraron un aumento en su altura durante la fermentación y el horneado, mientras que los PLL-MG3 crecieron en forma lateral. El PLL-MG1 presentó la estructura interna más firme. Los PLL-MG1 y PLL-MG2 fueron los más preferidos por los evaluadores en cuanto a sabor y aspecto general. El PLL-MG1 fue evaluado como el producto más

simétrico, con una corteza poco escamosa, una estructura interna muy laminada y una distribución muy uniforme de poros y láminas. Las características de las grasas tuvieron influencia en el comportamiento de la masa y en la calidad y percepción final de los productos. La MG con un alto contenido de sólidos y punto de fusión y una viscosidad poco sensible a los cambios de temperatura (MG1) permitió obtener un PLL de buena calidad tecnológica y sensorial.

Palabras clave: panificados, análisis sensorial, materia grasa

Abstract: The salty laminated bakery products (PLL), *criollitos cordobeses*, are among the most consumed products in Córdoba. However, there are no previous studies about the influence of the formulation over the products quality. The aim of this work was to analyze the effect of different fats (MG) on the technological quality and sensory characteristics of the products and the relationship between the different parameters. Dough-MG1 was the least deformed during compression and the phase structuration was the most ordered. The more viscous character of MG1 prevented the fluency and breakage into the system structure. MG3 was less viscous and produced dough pieces with lower resistance to deformation and with an internal conformation less stratified. PLL-MG1 and PLL-MG2 showed an increase in height during fermentation and baking, while PLL-MG3 grown laterally. PLL-MG1 showed the highest value for the internal structure firmness. PLL-MG2 and PLL-MG1 were the most preferred by evaluators about flavor and general appearance. PLL-MG1 was evaluated like the most symmetrical product with a little flaky crust, a laminated internal structure and a very uniform

distribution of pores and sheets. The characteristics of the fat had influence on the dough behavior and in the quality and perception of the baked products. The MG with a high solids content and melting point and a viscosity less sensitive to temperature changes (MG1) allowed to obtained products with good technological and sensory quality.

Key words: bakery products, sensory analysis, fat

INTRODUCCIÓN

El trigo es uno de los tres cereales más cultivados en el mundo, junto al maíz y el arroz. Se lo utiliza para la producción de harinas y sémolas a partir de las cuales se obtienen una gran variedad de productos alimenticios como pan, galletitas, pastas y otros. En Argentina se consume un promedio de 834 g de bizcochos y galletitas mensualmente por habitante por año (Lezcano, 2011), lo que la posiciona dentro de América como uno de los principales países consumidores de productos panificados elaborados con harina de trigo (Lezcano, 2007). Los bizcochos laminados salados, conocidos como "criollitos cordobeses", son los segundos productos panificados más consumidos en la región centro de Argentina (Giannoni, 2012). Este producto constituye un interesante sistema de estudio porque a pesar de su simple formulación (harina, materia grasa, levadura y agua) presenta una estructura muy compleja.

La masa tradicional de hojaldre está compuesta básicamente por: harina, materia grasa, agua y sal. Una vez obtenida la masa, ésta es laminada con materia grasa y horneada para obtener el característico producto liviano y poroso. Este tipo de sistema está formado por capas o láminas alternadas de masa y grasa (Ghotra *et al.*, 2002). La materia grasa empleada en la formulación imparte cualidades de textura, palatabilidad y sabor al producto final, provoca la estabilización de las burbujas de aire que se generan durante el amasado de la masa, influye en el manejo de la misma durante la elaboración y posee un marcado efecto sobre sus propiedades viscoelásticas (Jacob y Leelavithi, 2007). La obtención de un producto laminado de alta calidad depende en

gran medida de la composición de la masa, la calidad de la harina y la materia grasa utilizadas y del proceso de producción empleado (Hay, 1993). La influencia de la materia grasa en el comportamiento del sistema a lo largo del proceso de elaboración y la definición de parámetros de calidad de las masas y panificados laminados en relación a la preferencia de los consumidores son elementos claves para garantizar la obtención de un producto de idénticas características en forma consistente y homogénea en el tiempo. Sin embargo, todavía no se cuenta con parámetros de calidad definidos para este tipo de productos regionales.

El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto de diferentes materias grasas sobre la calidad tecnológica y las características sensoriales de panificados laminados y la relación entre los diferentes parámetros.

MATERIALES Y METODOS

Los panificados laminados se elaboraron con una muestra de harina de trigo "000" de marca comercial (Graciela Real, Argentina); y tres muestras de materia grasa de marca comercial:

- MG1: elaborada con oleo margarina bovina refinada, almidón y agua (La Cordobesa para hojaldre, Argentina)
- MG2: elaborada con aceite vegetal parcialmente hidrogenado, aceite vegetal refinado, manteca y agua (Mkt CALSA margarina para hojaldre, Argentina)
- MG3: elaborada con aceites vegetales y agua (Margarina Dánica, Argentina)

Caracterización físico-química de la harina

Se determinó el contenido de humedad, cenizas y proteínas de la muestra (Métodos 44-19, 08-01 y 46-10, AACC, 2000; respectivamente). La determinación del gluten húmedo y seco se realizó mediante el método de lavado manual (Método 38-10, AACC, 1995). Se evaluó el Perfil de Capacidad de Retención de Solventes (SRC) (Método 56-11, AACC, 2000) y el Índice de Sedimentación en Dodecil Sulfato de Sodio (IS-SDS) (Método 56-70, AACC, 1995). Se determinó el número de caída de las harinas según la Norma IRAM 15862, 2003 (Falling Number 1400, Perten, Suecia). El ensayo alveográfico se realizó (Norma IRAM 15857, 1995) utilizando un alveógrafo Chopin tipo MA 95 (Trippette & Renaud, Francia). Sobre una curva promedio se calcularon los parámetros de tenacidad (P), extensibilidad (L) y la relación P/L.

Caracterización de la materia grasa

Perfil de fusión: La evaluación del proceso de cristalización-fusión de las muestras se realizó a través de Calorimetría Diferencial de Barrido (Calorímetro DSC 823 Mettler-Toledo, Zurich, Suiza). Se peso entre 7-10 mg de materia grasa en capsulas de aluminio de 40µl. El programa utilizado fue el siguiente: calentamiento desde 30 °C hasta 80 °C (velocidad: 10°C/min), isoterma a 80 °C durante 10 minutos, enfriamiento hasta -20 °C (velocidad: 1 °C/min), isoterma a -20 °C durante 30 minutos, calentamiento hasta 80 °C (velocidad: 10°C/min). A partir de las curvas de flujo de calor versus temperatura se determino la temperatura de fusión (Tf) de las muestras.

Relación sólido/líquido (SFC): La SFC se registró a diferentes temperaturas (10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 y 45°C) y se expreso como %SFC (Firestone, 1989) (Analizador de pulsos Minispec mq20).

Comportamiento reológico: Las muestras se sometieron inicialmente a un proceso de calentamiento y enfriamiento (9 °C durante 60 min) para borrar la memoria cristalina. Los ensayos se realizaron en un reómetro RHEOPLUS/32 (Anton Paar, Germany), con geometría de platos paralelos (PP08) y 1 mm de apertura. Para determinar el rango de viscoelasticidad lineal de las materias grasas se llevaron a cabo barridos de esfuerzos de corte a frecuencia (1 Hz) y temperatura (25 °C) constantes. A partir de estos ensayos sobre nuevas piezas se realizaron barridos de frecuencia (0.01-10 Hz) a temperatura (25 °C) y deformación (0.1%) constantes. A partir de los ensayos realizados se obtuvieron el módulo de almacenamiento (módulo elástico, G'), el módulo de pérdida (módulo viscoso, G'') y la tan δ (G''/G'). Se realizaron barridos de temperatura desde 25 °C a 90 °C (velocidad de calentamiento: 2,99 °C/min, frecuencia: 1 Hz, deformación: 0.1 %). La influencia de la temperatura sobre la viscosidad compleja se evaluó a través del ajuste de los datos obtenidos en los barridos de temperatura a una ecuación del tipo Arrhenius (1). En donde η* es la viscosidad compleja (Pa.s), A es un factor pre exponencial (Pa.s), Ea es la energía de activación (cal/mol), R es la constante universal de los gases (1.987207 cal/mol.K) y T es la temperatura (K).

$$\eta^* = A \exp(-E_a/RT)_{(1)}$$

Elaboración de panificados laminados

Se elaboraron panificados laminados utilizando las tres muestras de materia grasa y la de harina de trigo. La formulación utilizada para la masa fue la siguiente: 100% de harina de trigo, 20% de materia grasa, 2,8% de levadura prensada, 2,5% de sal, 1,4% de azúcar y 50% de agua. El empaste se preparó empleando un 33,3% de materia grasa en base harina. Los ingredientes de la masa fueron mezclados en una amasadora (MPZ Pedro Zambom e hijos, Argentina) durante 3 minutos. La masa obtenida se estiró en forma rectangular y la mitad se cubrió con el empaste, se dobló la cara libre sobre la cubierta por empaste y se cerraron los bordes para evitar pérdidas. La masa resultante fue laminada en una sobadora (Mi-Pan vf roller, Argentina) a través de rodillos de 50,0 x 12,7 cm. Se realizó un hojaldrado simple, marcando tres partes sobre la masa y encimando una sobre otra. Luego se dejó la masa en reposo a temperatura ambiente durante 20 min. Este procedimiento se repitió dos veces. El espesor final de la masa fue de 50 mm. Por último se cortaron los bordes externos de la masa y se realizaron perforaciones de 20 mm cada 1,6 cm para impedir que las capas se separen durante el horneado. Se cortaron piezas de 5cm x 5cm y se las colocó a fermentar en una cámara de fermentación (Pauna-Cst, Argentina) a 30 °C y 80% de humedad relativa, hasta que las piezas duplicaron su altura. El horneado se realizó a 175°C durante 27 min.

Evaluación de la calidad de las masas

Microestructura: Se hicieron cortes transversales de las piezas de masa laminadas sin fermentación y se sometieron a tinción con colorantes selectivos (almidón: solución de fluoresceína 1% en

dimetilformamida, proteínas: solución de Rhodamine B 1% en dimetilformamida). Las imágenes se tomaron con un Microscopio Confocal Nikon Eclipse C1si (Nikon Inc., Tokyo, Japan), utilizando una magnificación de 20x.

Textura: Se determinó la resistencia a la compresión de las masas utilizando un texturómetro INSTRON 3342 (Norwood, MA, EUA), bajo las siguientes condiciones: 40% de deformación máxima, 1 mm/s de velocidad de compresión, 10 mm de diámetro del cabezal. Se realizó un ciclo de compresión-descompresión sobre el centro de la pieza de masa laminada sin fermentación, para obtener una curva a partir de la cual se calculó la resistencia máxima de las masas a la compresión (gf).

Evaluación de la calidad de los productos

Evolución conformacional: Para evaluar el cambio que sufrieron los productos en su conformación dimensional desde el proceso de fermentación hasta el final del horneado y posterior enfriamiento se tomaron mediciones del alto (h), largo (l) y ancho (a) de tres piezas de masas por muestra antes del proceso de fermentación y en los respectivos productos horneados. Las mediciones de altura se hicieron en tres puntos sobre la superficie (dos puntos extremos y uno central). Se calcularon las relaciones de alto (Rh) (2) y ancho (Ra) (3) y el factor de forma (FF) (4), que reúne el total de las dimensiones de los productos al final del horneado. Todas las determinaciones se hicieron por duplicado.

Rh= h final del horneado/h inicio de fermentación (2)

Ra= a final del horneado/a inicio de fermentación (3)

$$FF = (h / ((a+l)/2))^{(4)}$$

Color de la corteza: se utilizó un espectrofotómetro de reflectancia CM-700d/600d KONICA MINOLTA (Ramsey, EUA), y se registraron los parámetros L*, a* y b. Se tomaron tres mediciones por corteza.

Volumen específico (VE): se determinó por desplazamiento de semillas de colza luego de 1 h de horneado y se calculó dividiendo el volumen de cada pieza por su peso (cm³).

Textura: Se realizó un ciclo de compresión-descompresión sobre el centro de la pieza para obtener una curva a partir de la cual se calculó la firmeza de la estructura interna de la muestra (gf). Se utilizó un texturómetro INSTRON 3342 (Norwood, MA, EUA), bajo las siguientes condiciones: deformación máxima: 40%, velocidad de compresión: 1 mm/seg, diámetro del cabezal: 10 mm.

Estructura interna: La conformación de las láminas en el interior de los productos se evaluó a través de un análisis de textura de imágenes. Se tomaron imágenes de cortes transversales con un escáner fotográfico (HP Scanjet G3010, Palo Alto CA, EUA) y se las analizó con el programa Image J (National Institutes of Health, EUA). Se seleccionó una región de interés (ROI) en la imagen y se la procesó (filtros de suavizado y enfatizado). Se aplicó el algoritmo Gray Level Co-Occurrence Matrix, a partir del cual se obtuvieron descriptores texturales. Seguidamente se ajustó un umbral (Algoritmo Otsu: 0; 207) y la imagen obtenida fue binarizada. Por último se aplicó el algoritmo Fractal Box Counting que permitió obtener la dimensión fractal de la imagen.

Análisis sensorial: Para establecer la preferencia de los consumidores en cuanto al sabor, olor y aspecto general de los

productos se llevó a cabo un ensayo de preferencia con 83 evaluadores. Los resultados se evaluaron con un análisis de la varianza no paramétrico de Friedman (INFOSTAT, Di Rienzo *et al.*, 2008). Con el fin de evaluar la asociación entre mediciones instrumentales y sensoriales se realizó una prueba discriminativa múltiple. Se cuantificaron las diferencias que presentaban los productos elaborados con las tres materias grasas en cuanto a forma, corteza, estructura interna (porosidad, laminado y uniformidad de la miga), firmeza y sensación percibida por la boca. Se utilizó una escala continua de 11 puntos y el panel sensorial estuvo conformado por 14 evaluadores (personal académico semi-entrenado). Los resultados se analizaron aplicando ANOVA, Modelos Lineales Generales y Mixtos y el test de comparaciones múltiples de LSD (INFOSTAT, Di Rienzo *et al.*, 2008).

Análisis estadístico

Los ensayos realizados para caracterizar las muestras de materia grasa fueron realizados por triplicado. Las determinaciones para evaluar la textura de las piezas de masa y la calidad de los productos se realizaron sobre tres piezas de cada muestra y su respectivo duplicado. Los resultados se informaron como el valor promedio \pm la desviación estándar. Los datos obtenidos se trataron estadísticamente mediante un análisis de varianza y los resultados fueron comparados por el Método LSD Fisher a un nivel significativo de 0,05 (INFOSTAT, Di Rienzo *et al.*, 2008).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización físico-química de la harina

La muestra de harina utilizada para la elaboración de los panificados laminados presentó un contenido de cenizas de $0,739 \pm 0,001$ %, valor mayor al esperado para una harina "000" según el CAA (máximo: 0,65 g/100g). El contenido de proteínas fue de $11,25 \pm 0,07$ % y el contenido de gluten húmedo y seco fue de $35,37 \pm 0,67$ % y $14,755 \pm 0,003$ % respectivamente. La muestra presentó un número de caída de 414 seg, indicando una actividad amilásica débil. El IS-SDS determina la capacidad de hidratación y de expansión de la proteína del gluten en un medio ligeramente ácido (Axford *et al.*, 1979). Se lo utiliza como indicador de la calidad panadera de la harina en estudio ya que mientras más alto sea el índice más apta será la harina para la elaboración del pan (Amaya y Peña, 1990). La muestra analizada presentó un IS-SDS de $14,00 \pm 0,00$ cm³, valor fue mayor a los registrados para trigos blandos (Guttieri, 2004). El ensayo de SRC ha sido diseñado para evaluar cualidades específicas de las harinas, como lo son la influencia del contenido de pentosanos y gliadinas (SRC-sacarosa), almidón dañado (SRC-carbonato), fuerza de las gluteninas (SRC-Láctico) y la retención de agua (SRC-H₂O) (Gaines, 2000). Al comparar los resultados obtenidos para SRC-Sacarosa ($97,80 \pm 4,66$ %), SRC-Láctico ($99,47 \pm 0,93$ %), y SRC-carbonato ($73,29 \pm 0,29$ %), con los informados por la AACC (Método 56-11, AACC, 2000), se puede decir que la harina utilizada es apta para la obtención de productos de masa esponjosa. Sin embargo el SRC-agua ($84,11 \pm 0,33$ %), presentó un valor mayor a los obtenidos por Moiraghi *et al.* (2011) para harinas aptas para galletitas ($47,92$ - $64,98$ %) y Steffolani *et al.* (2007) en harinas buenas para producir pan ($58,39$ - $71,00$ %). Se

obtuvo un valor de 320×10^{-4} J para W. Según Quaglia (1991) harinas con un W mayor a 250×10^{-4} J y un P/L mayor a 0,7 son buenas para ser utilizadas solo en mezclas con otras harinas. La relación P/L de la harina en estudio fue de 1,82 (P: 120,12 m/m; L: 66 m/m), valor que se asocia a harinas tenaces (Tejero, 1995).

Caracterización de la materia grasa

Las curvas de cristalización-fusión de las muestras evidenciaron un complejo perfil de fusión, por lo que se consideró a la Tf como el máximo de cada pico endotérmico. Las muestras de materia grasa analizadas presentan Tf significativamente diferentes ($p < 0,05$). MG1 presentó un Tf ($46,94 \pm 0,08$ °C) cercano al que se registra para shortenings utilizados en la producción de hojaldre (*puff pastry*), cuyo intervalo de Tf es: ($46,1$ - $57,2$) °C. Las muestras MG2 y MG3 presentaron Tf ($39,09 \pm 0,18$ °C; $42,77 \pm 1,29$ °C, respectivamente) cercanas a las de las margarinas utilizadas en el pastel de hojaldre (*danish pastry*): 39 °C (O'Brien, 2004). La relación del SFC de las materias grasas estudiadas disminuyó con el aumento de la temperatura (**Figura 1**). Durante el rango de temperatura evaluado (10-45 °C) MG1 presentó una SFC significativamente mayor ($p < 0,05$) que las demás muestras. El SFC de MG2 fue significativamente menor que el de MG1 durante el intervalo de temperatura considerado y significativamente mayor al SFC de MG3 a 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40 °C ($p < 0,05$).

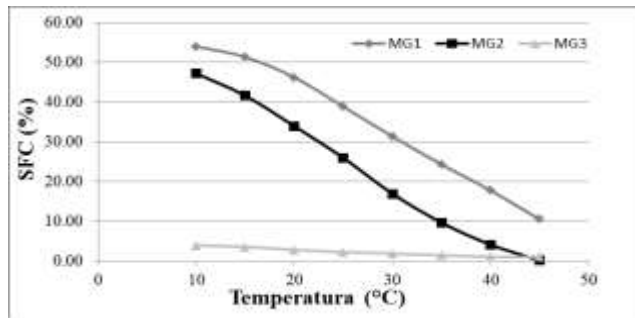
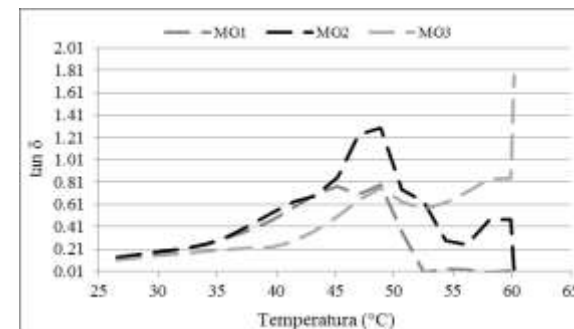
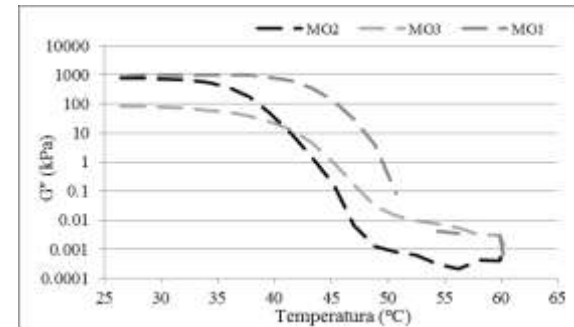
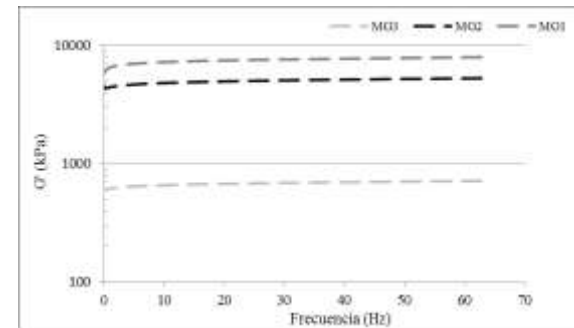


Figura 1: Relación del contenido líquido/sólido de las muestras de materia grasa*

*SFC: Relación del contenido líquido/sólido

Los barridos de frecuencia, en condiciones isotérmicas, muestran la respuesta reológica de las materias grasas (en términos de esfuerzo) cuando estas son sometidas a la acción cíclica de un estímulo constante, deformación, cuya frecuencia cambia a lo largo del ensayo. Los perfiles de frecuencia para las grasas muestran una baja dependencia de su comportamiento viscoelástico con la frecuencia. No se observan grandes aumentos de los módulos G' y G'' con el aumento de la frecuencia (**Figura 2 A y B**). En las tres muestras se observa un predominio de G' sobre G'' a todas las frecuencias estudiadas, lo cual revela un comportamiento del sistema más similar al de un sólido, en donde las deformaciones serán esencialmente elásticas o recuperables (Rao, 1999). Este comportamiento es típico para grasas plásticas y es reportado por otros autores para mezclas de grasas (Buldo y Wiking 2012, Jiménez-Colmenero *et al.* 2012).



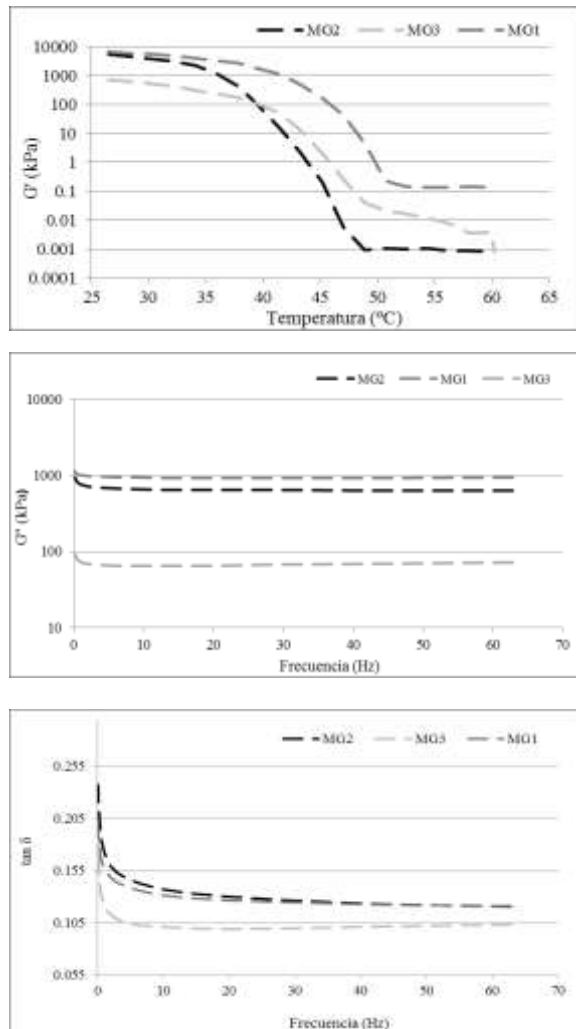


Figura 2: Perfiles reológicos de las materias grasas*

*a.;b.;c: barridos de frecuencia; d.;e.;f: barridos de temperatura; G' : módulo elástico o de almacenamiento; G'' : módulo viscoso o de pérdida; $\tan \delta$: relación G''/G' .

Las muestras MG1 y MG2 presentaron módulos elásticos mayores ($p < 0,05$) a la componente elástica de la muestra MG3. MG1 presentó la mayor componente viscosa, seguida de MG2 y de MG1 (**Tabla 1**). MG2 presentó los mayores valores de $\tan \delta$ a lo largo de todo el barrido, MG1 y MG3 la siguieron con valores inferiores (**Figura 2 C**). Esto indica que la muestra MG3 presenta una estructura más elástica, y MG1 y MG2 evidencian un comportamiento más viscoso. A pesar de la tendencia observada, a 1 Hz de frecuencia las relaciones observadas para $\tan \delta$ no fueron significativamente diferentes (**Tabla 1**).

Tabla 1: Parámetros reológicos a 1Hz de frecuencia.

Muestras	G' (kPa)	G'' (kPa)	$\tan \delta$
MG1	6500	1009	0,16
MG2	4435	763	0,17
MG3	619	74	0,12

* G' : módulo elástico o de almacenamiento; G'' : módulo viscoso o de pérdida; $\tan \delta$: relación G''/G' . Letras diferentes indican diferencias significativas en cada columna ($p \leq 0,05$).

Las muestras de grasa presentaron comportamientos reológicos diferentes cuando fueron sometidas a un tratamiento térmico. Los valores de G' fueron mayores a los de G'' para las tres muestras a lo largo del todo el barrido de temperatura (**Figura 2 D-E**). En una primera región (Región 1: 0~39 °C) se observa una leve disminución de la componente elástica. El módulo G' de MG2 comienza a disminuir a una menor temperatura (35,9 °C) que los correspondientes módulos de MG3 (38,7 °C) y MG1 (41,5 °C). La misma tendencia se observa para la componente viscosa de las muestras. Los mayores cambios reológicos tuvieron lugar en una segunda región (Región 2: 39~45 °C), en donde se observó una rápida disminución de ambas componentes debido a la fusión de las grasas con el aumento de la temperatura. A 39,6 °C y 45,1 °C MG1 presentó una componente elástica y viscosa significativamente mayor a MG2 y MG3 (**Tabla 2**). Los valores de $\tan \delta$ para las muestras (**Figura 2 F**) a bajas temperaturas (0~39 °C) evidencian un carácter más bien de sólido viscoelástico con valores cercanos a cero. Luego con el aumento de la temperatura (39~45 °C) las grasas se presentan como sistemas con un comportamiento de líquido viscoelástico. A 39,6 °C y 45,1 °C MG3 presentó un $\tan \delta$ significativamente menor a MG1 y MG2, lo cual evidencia su mayor carácter de sólido viscoelástico. Las muestras de materia grasa presentaron energías de activación diferentes (**Tabla 2**), aunque las tendencias observadas no fueron significativamente distintas. En la región 1, que comprende el rango de temperaturas en donde se elabora y lamina la masa, MG3 fue la muestra más sensible a los cambios de temperatura (mayores valores de E_a), con una velocidad de desestructuración del sistema mayor que MG1 y MG2. En la región 2, se observó que MG1 fue la muestra menos resistente a los cambios de temperatura, seguida de MG2 y MG3.

Tabla 2: Parámetros reológicos del barrido de temperatura y ajuste de la ecuación de Arrhenius*

Muestras	G' (kPa)		G'' (kPa)		$\tan \delta$		Energía de activación (kcal.mol ⁻¹)	
	39,6 °C	45,2 °C	39,6 °C	45,2 °C	39,6 °C	45,2 °C	Región 1	Región 2
MG1	17 a 65,0	16 a 8,0	81 a 8,5	12 a 9,5	0,47 a	0,77 a	0,24 a	4,14 a
MG2	92,1 b	0,2 b	49,3 b	0,2 b	0,53 a	0,87 a	0,20 a	3,20 a
MG3	10,8 b	2,0 b	24,8 b	1,0 b	0,23 b	0,51 b	0,26 a	3,75 a

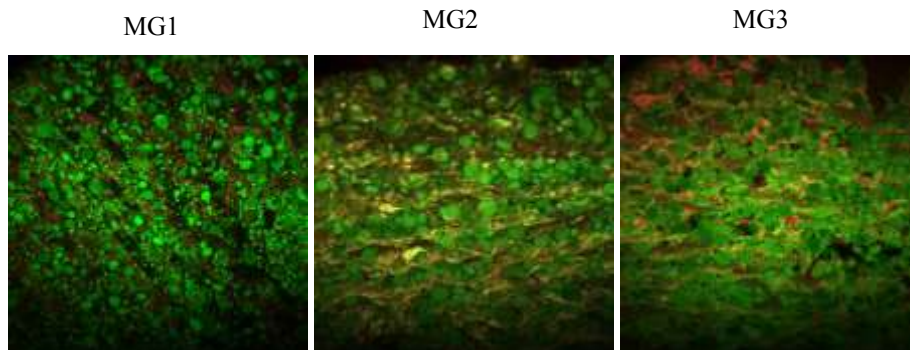
* G' : módulo elástico o de almacenamiento; G'' : módulo viscoso o de pérdida; $\tan \delta$: relación G''/G' . Letras diferentes indican diferencias significativas en cada columna ($p \leq 0,05$).

Evaluación de la calidad de masas y panificados laminados

La estructura interna de la fase-masa (**Figura 2 A**) en las muestras elaboradas con MG1 y MG2 parece estar constituida por una red de gluten ordenada, con una dirección y sentido a lo largo de la superficie observada. Por otro lado, en MG3 se observa una red proteica estructurada de forma irregular. Las imágenes de la interfaz masa|grasa|masa (**Figura 2 B**) revelan un posible efecto absorción de la fase-grasa (comúnmente llamada "empaste") en las fases-masa. MG1 presenta una fase-masa con límites bastante definidos y en la fase-grasa solo están presentes algunos gránulos de almidón en forma aislada. En el caso de MG3 se observa una fase bastante continua de gránulos de

almidón contenidos en la fase-grasa y fases-masa con bordes irregulares. MG2 presenta una situación intermedia, ya que hay algunos gránulos de almidón y proteínas pertenecientes a los bordes de las fases-masa en la fase-grasa. Las masas laminadas presentaron distintas respuestas al ser sometidas a una gran deformación. La muestra elaborada con MG1 presentó una resistencia a la deformación ($1933,77 \pm 241,72$ gf; $p < 0,05$) mayor que MG2 y MG3 ($1250,92 \pm 46,20$ gf y $602,05 \pm 0,20$ gf respectivamente; $p < 0,05$). Estas observaciones revelan que la interacción física entre la materia grasa y la red de gluten y los gránulos de almidón es diferente para cada sistema e influye en la estructuración del mismo durante el laminado. Las masas elaboradas con MG1 fueron los sistemas que menos se deformaron durante la compresión y la estructuración de las fases-masa y grasa fue la más ordenada. Esto probablemente se debe al mayor carácter viscoso de MG1 que le impidió fluir e irrumpir en la estructuración del sistema y el debilitamiento del mismo. Por otro lado, MG3 con un carácter poco viscoso produjo masas laminadas con baja resistencia a la deformación y con una conformación interna poco estratificada de las distintas fases, lo cual se deba a su mayor capacidad de fluir.

a.



b.

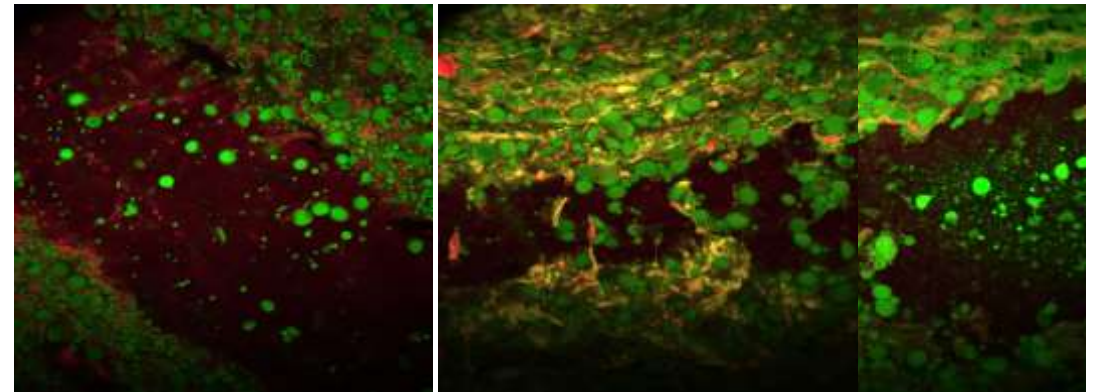


Figura 3: Microscopia confocal de barrido de masas laminadas sin fermentación*

*a.: fase-masa; b.: interfaz masa|grasa|masa. En verde: gránulos de almidón; en rojo: proteína; regiones oscuras: materia grasa.

La **Figura 4** muestra los panificados laminados elaborados con las distintas muestras de grasa. Los productos elaborados con MG1 y MG2 presentaron mayores valores para la relación de altura y menores valores para la relación de ancho que los panificados con MG3 (**Figura 5**). Esto demuestra que las muestras con MG1 y MG2 sufrieron mayores aumentos en su altura (en dirección vertical) a lo largo de la fermentación y el horneado que los panificados con MG3, mientras que estos últimos experimentaron mayores incrementos en su ancho (en dirección horizontal). El factor de forma (FF) reúne el ancho, largo y alto del producto al final del horneado y proporciona una noción a cerca de la conformación dimensional total del mismo. Los mayores valores del FF fueron obtenidos por los panificados

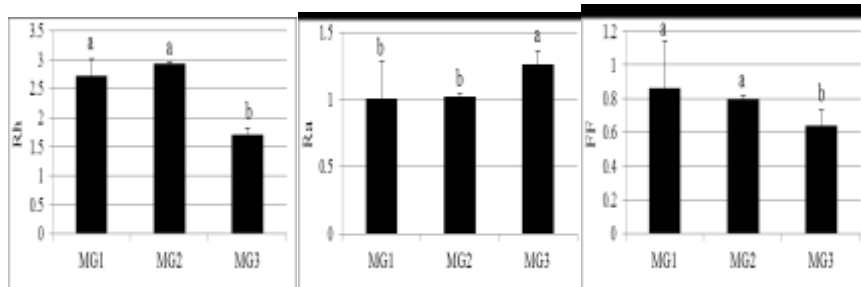
con MG1 y MG2. Esto se asocia con productos horneados de mayores valores de altura y menores valores de ancho y largo que las muestras con MG3.

Figura 4: Panificados laminados elaborados con distintas muestras de materia grasa.



Figura 5: Evolución conformacional de los panificados laminados*

*Rh: relación de altura; Ra: relación de ancho; FF: factor de forma. Letras diferentes indican diferencias significativas en cada columna ($p \leq 0,05$).



La luminosidad de la corteza de los panificados se vio significativamente afectada por la materia grasa utilizada. Los productos elaborados con MG1 presentaron cortezas más claras, valores mayores de L^* (Tabla 3), que los demás panificados. También se observaron variaciones significativas en los parámetros de color a^* y b^* . Las cortezas de las muestras con MG1 presentaron la menor intensidad de los colores amarillo y rojo. Los productos con MG3 evidenciaron cortezas con altas intensidades amarillas y rojas, mientras que los panificados con MG2 presentaron cortezas con intensidades medias del color amarillo y altas intensidades del color rojo. El volumen específico de los panificados no sufrió alteraciones significativas al variar la materia grasa utilizada en la elaboración. Por otro lado, la firmeza de la estructura del producto se vio afectada significativamente por la muestra de grasa empleada. Los productos con MG1 presentaron la estructura más firme al ser sometidos a compresión, seguidos de los panificados con MG2 y MG3.

Tabla 3: Parámetros de calidad de los panificados laminados*

*VE: volumen específico. Letras diferentes indican diferencias significativas en cada columna ($p \leq 0,05$).

Muestra	L*	a*	b*	VE (cm ³)	Firmeza (gf)
MG1	71,8 ±1,2 a	5,1 ±0,9 b	31,5 ±1,5 b	3,4 ±0,0 a	4486,6 ±517,4 a
MG2	67,8 ±1,2 ab	8,6 ±2,5 ab	37,9 ±1,2 a	3,8 ±0,7 a	3582,7 ±442,0 b
MG3	63,2 ±2,6 b	12,5 ±1,9 a	41,2 ±1,2 a	3,8 ±1,4 a	2078,5 ±473,8 c

El análisis textural de las imágenes de cortes transversales de los panificados permitió evaluar los cambios en la estructura interna de los sistemas elaborados con las diferentes materias grasas. Diferentes parámetros obtenidos al aplicar algoritmos matemáticos a las imágenes permiten describir la superficie. El contraste se relaciona con la variación local de la escala de grises. La entropía es una medida del contenido de información de la imagen, cuantifica la aleatoriedad de la distribución de intensidad en la imagen. La dimensión fractal (DF) se asocia con el grado de rugosidad de la superficie. La estructura interna de los productos se vio afectada significativamente al variar la materia grasa empleada (**Tabla 4**). Las imágenes de los productos con MG1 presentaron una la mayor variación local de la escala de grises (mayores valores de contraste). Los panificados con MG2 presentaron la estructura interna más homogénea, seguidos de los que contenían MG1 y MG3.

Tabla 4: Parámetros texturales del análisis de imágenes*.

Muestra	Contraste	Homogeneidad	Entropía	DF
MG1	68,9 a	0,2 c	7,7 a	1,8 a
MG2	41,9 b	0,4 a	7,2 b	1,8 a
MG3	44,5 b	0,3 b	7,0 b	1,6 b

*DF: dimensión fractal. Letras diferentes indican diferencias significativas en cada columna ($p \leq 0,05$).

Las muestras con MG1 mostraron el mayor valor de entropía, relacionado con imágenes más complejas. El menor valor de las muestras con MG3 para la DF se asoció con superficies simples y suaves. Por otro lado, los productos con MG1 y MG2, presentaron mayores valores de DF, relacionados a superficies más rugosas y estructuras complejas.

Los panificados laminados elaborados con las tres muestras de grasas fueron sometidos a una evaluación sensorial de preferencia. Este ensayo reveló que los productos elaborados con MG1 y MG2 fueron los más preferidos en cuanto a sabor y aspecto general, ya que obtuvieron valores de media de rangos significativamente mayores que las muestras con MG. El olor de las muestras no generó preferencias significativas entre los productos (**Tabla 5**).

Tabla 5: Prueba de Friedman para la evaluación de preferencia de los panificados laminados*.

Muestras	Aspecto general		Olor		Sabor	
	Suma de rangos	Media de rangos	Suma de rangos	Media de rangos	Suma de rangos	Media de rangos
MG1	188,5	2,22 b	172,5	2,03 a	180,5	2,12 b
MG2	190,5	2,24 b	178	2,09 a	185,5	2,18 b
MG3	131	1,54 a	159,5	1,88 a	144	1,69 a

*Letras diferentes indican diferencias significativas en cada columna ($p \leq 0,05$).

El análisis sensorial descriptivo (**Figura 6**) reveló que las muestras mejor posicionadas en el análisis de preferencia (panificados con MG1 y MG2) fueron muy simétricas, poco firmes y con cortezas de aspecto variable; en el caso de MG1 poco escamosa, mientras que MG2 presentó una corteza escamosa. En cuanto a la conformación de la estructura interna, las muestras con MG1 y MG2 fueron evaluadas como poco porosas y muy laminadas, con una distribución menos uniforme que MG3. Los productos con MG3 fueron poco simétricos, con cortezas muy escamosas y con una estructura interna poco laminada y muy uniforme.

simetría y el nivel de laminado son atributos positivos, es decir cuanto mas altos sean los valores obtenidos para los mismos mejor es la calidad de los panificados laminados. Por otro lado, la firmeza y la uniformidad de la estructura interna son atributos negativos, indicando que cuanto más pequeño sean los valores obtenidos para los mismos mejor será la calidad de los productos. No se observó una tendencia clara con respecto al aspecto de la corteza. No hubo diferencias significativas en los resultados obtenidos para el nivel de porosidad y la sensación poco o muy grasosa percibida por la boca.

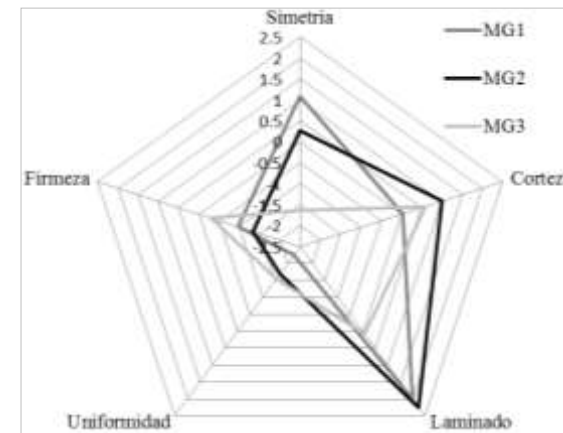


Figura 6: Representación de los atributos sensoriales de los panificados laminados.

CONCLUSIONES

En conclusión, las masas laminadas con grasas cuyo comportamiento fue más viscoso y poco sensible a los cambios de temperatura, presentaron estructuras más resistentes a la deformación con interfaces masa|grasa|masa bien definidas. Los productos laminados obtenidos a partir de las mismas experimentaron crecimientos verticales en lugar de expansiones horizontales durante la fermentación y el horneado. Esto se tradujo a productos muy simétricos y laminados con estructuras internas complejas, que fueron los preferidos por lo evaluadores.

BIBLIOGRAFIA

- Amaya A y Peña RJ. 1990. Triticale industrial quality improvement at CIMMYT: past, present and future. Proc 2 do Int. Triticale Symposium, 412-421.
- American Association of Cereal Chemists, 1995. Approved methods of the AACC. 9th Edition, AACC, Inc.: St. Paul Minnesota.
- American Association of Cereal Chemists, 2000. Approved methods of the AACC. 10th Edition, AACC, Inc.: St. Paul Minnesota.
- Axford DWE, McDermott EE y Redman DG. 1979. Note on the sodium dodecyl sulfate test of breadmaking quality: comparison with pelshenke and zeleny tests. Cereal Chem., 56:582-584.
- Buldo P y Wiking L. 2012. The role of mixing temperature on microstructure and rheological properties of butter blends. Journal of the Am. Oil Chem. Soc., 787-795.
- Código Alimentario Argentino (CAA), cap. IX: Alimentos Farináceos, cap. IX, art. 661, res. 167, 26.1.82.
- Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M y Robledo CW. 2008. InfoStat, versión 2008. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Firestone D. 1989. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society Cd 16-81.
- Gaines CS. 2000. Collaborative study of methods for solvent retention capacity profiles (AACC Method 56-11). Cereal Foods World, 45: 303-306.
- Ghotra BS, Dyal SD y Narine SS. 2002. Lipid shortenings: a review. Food Research International.,35: 1015-1048.

Giannoni W. 2012. Historia con nueva estrategia. En: Diario La Voz del Interior, Córdoba, Argentina. <http://www.lavoz.com.ar/cordoba/historia-con-nueva-estrategia>. Fecha del último ingreso: 04/16/2014.

Guttieri M, Becker JC y Suoza E. 2004. Application of wheat meal solvent retention capacity tests within soft wheat breeding populations. *Cereal Chem.*, 81: 261-266.

Hay RL. 1993. Effect of flour quality characteristics on puff pastry baking performance. *Cereal Chemistry*, 70: 392-396.

IRAM (Instituto Argentino de Racionalización de Materiales). Norma IRAM 15857. IRAM. Buenos Aires, Argentina.

Jacob J y Leelavithi K. 2007. Effect of fat-type on cookie dough and cookie quality. *Journal of Food Engineering*, 79: 299-305.

Jimenez-Colmenero F, Cofrades S, Herrero AM, Fernández-martín F, Rodríguez-Salas L, Ruiz-Capillas C. 2012. Konjac gel fat analogue use in meat products: Comparison with pork fats. *Food Hydrocolloids*, 26:63-72.

Lezcano E. 2007. Análisis de cadenas alimentarias: Informe sobre trigo y sus derivados. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos, Argentina.

Lezcano E. 2011. Informe sectorial n°10: Cadena Farináceos. Dirección de Promoción de Calidad-Área Cadenas Agroalimentarias; Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca, Argentina.

Moiraghi M, Vanzetti L, Bainotti C, Helguera M, León A y Pérez G. 2011. Relationship between soft wheat flour physicochemical composition and cookie-making performance. *Cereal Chem.*, 88: 130-136.

O'Brien RD. 2004. Baking Shortenings. En: *Fats and Oils Formulating Processing Applications*. EUA, 2da Edición: Editorial CRC Press LLC, pag 24-29.

Quaglia G. 1991. La harina de trigo. En: *Ciencia y tecnología de la panificación*. Zaragoza, Editorial Acribia. pag 57-61.

Rao MA. 1999. Capítulo 3 : Measurement of flow and viscoelastic properties En: *Rheology of fluid and semisolid foods: Principles and applications*. Aspen Publishers, INc., Gaithersburg, Maryland. Pag, 59-152.

Steffolani ME, Pérez GT, Ribotta PD y León AE. 2007. Relationship between variety classification and breadmaking quality in argentine wheats. *International Journal of Agricultural Research*, 2: 33-42.

Tejero A. 1995. Como controlar la calidad de las harinas. En: *Panadería Española*. España, Editorial Montagud Editores SA, pag 27-29.

EFECTO DE LA PRESENCIA DE ÁCIDO CÍTRICO EN UNA PELÍCULA COMESTIBLE DE ALGINATO PORTADORA DE ÁCIDO L-(+)-ASCÓRBICO

De'Nobili M.D.^{1,3}, Soria M.^{2,3}, Bernhardt D.^{1,3}, Fissore E.N.^{1,3}, Rojas A.M.L.^{1,3}

1: Departamento de Industrias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina

2: Microbiología Agrícola, INBA-CONICET, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

3: CONICET – Argentina.

arojas@di.fcen.uba.ar

Resumen: Se evaluó el efecto de la presencia de ácido cítrico sobre la estabilidad hidrolítica del ácido L-(+)-ascórbico (AA) en una película comestible (PC) de alginato. Se analizó además el desarrollo subsiguiente de pardeamiento. Se estudió la cinética de destrucción del AA a humedad relativa (HR, 33,3 y 57,7%) y temperatura (25,0°C) constantes, en ausencia de oxígeno. Se evaluó, simultáneamente, la influencia de dos niveles de glicerol (plastificante). Se determinó que la presencia de ácido cítrico aumentó ligeramente la velocidad de degradación hidrolítica del AA en las PCs de alginato sólo cuando fueron equilibradas a 57,7% de HR. El agua fue el factor principal responsable de la hidrólisis del AA, esto es, la HR de almacenamiento. Por otro lado, en ausencia de ácido cítrico, sólo el incremento de HR condujo al aumento en las constantes cinéticas de pardeamiento de las PCs. Sin embargo, en presencia de ácido cítrico, la cinética

de pardeamiento cambió de pseudo-orden cero (en ausencia de ácido cítrico) a un orden combinado de cero y uno, lo que trajo como consecuencia un desarrollo de pardeamiento menor a tiempos de almacenamiento largos.

Palabras clave: películas comestibles, alginato, ácido ascórbico, ácido cítrico, pardeamiento, agua.

Abstract: The effect of the presence of citric acid on the hydrolytic stability of the L-(+)-ascorbic acid (AA) supported in alginate films (PC), as well as on the subsequent browning development was evaluated. Kinetics of the AA decay were studied at a constant relative humidity (HR, 33.3 and 57.7%) and temperature (25.0 °C), in the absence of oxygen. The influence of two levels of glycerol (plasticizer) was simultaneously assessed. The presence of citric acid increased slightly the rate constant of AA hydrolysis into the alginate film only when they were equilibrated at 57.7% HR. Water was the main factor responsible for the hydrolysis of AA, that is, the RH of storage. Furthermore, in the absence of citric acid, only the increment in the RH value of storage led to the increase in the rate constants of film browning. However, in the presence of citric acid, browning kinetics changed from a pseudo-zero order (as in the absence of citric acid) to a combined zero- and first-order kinetic law, which resulted in a smaller development of browning at longer storage times.

Keywords: edible films, alginate, ascorbic acid, citric acid, browning, water

INTRODUCCIÓN

Las PCs elaboradas a partir de biopolímeros están destinadas a funcionar como barreras, pudiendo prolongar la vida útil de los alimentos. Si bien no son buenas barreras al vapor de agua, tienen una utilidad creciente como portadoras de preservadores (Han y Gennadios 2005). En particular, resulta de gran interés el desarrollo de PCs como soporte de antioxidantes naturales debido al efecto protector que éstos ejercen, principalmente, frente al oxígeno (Atarés *et al.* 2011).

Muchos biopolímeros han llamado la atención debido a su propiedad de formar películas (Lai y Padua 1997). El alginato es un biopolímero que viene siendo muy aplicado al desarrollo de materiales biomédicos y, en el campo de los alimentos, al desarrollo de películas (Lee y Mooney 2012). Presenta la capacidad de gelificar en presencia de Ca^{2+} (Braccini y Pérez 2001), lo cual hace que el alginato encuentre una importante aplicación en encapsulamiento (Stabler *et al.* 2001). El ácido algínico es un polisacárido natural aislado de las algas pardas. Es un copolímero constituido por bloques constituidos por ácido β -D-manurónico (bloques MM) o de α -L-gulurónico (bloques GG) con unión (1,4), pudiéndose además encontrar bloques donde estos monómeros se distribuyen alternadamente (bloques GM+MG) (Jothisarawathi *et al.* 2006).

La vitamina C es uno de los micronutrientes que participa en el balance prooxidante-antioxidante en seres humanos (Morrisey y O'Brien 1998, Weisburger 1999). La principal forma biológica activa de la vitamina C es el AA pero su producto de oxidación, el

ácido L-dehidroascórbico, es también activo (Levine y Morita 1985, Villota y Karel 1980). La estabilidad del AA se ve afectada por el procesamiento y por condiciones de almacenamiento tales como la temperatura, la HR de equilibrio, la presión parcial de oxígeno, luz, configuración del envase (Kitts 1997). La destrucción del AA, tanto en ausencia como en presencia de oxígeno, origina intermediarios activos en el desarrollo de compuestos pardos, lo cual conlleva al llamado pardeamiento (no enzimático) (Rojas y Gerschenson 2001, León y Rojas 2007).

El ácido cítrico es un buen preservante y antioxidante natural ampliamente utilizado en formulación de farmacéutica. Es además uno de los aditivos (E330; Commission Regulation EU 438/2013) más empleados por la industria alimentaria. Al igual que el AA, el ácido cítrico es también un aditivo especialmente eficaz para evitar el oscurecimiento que se produce rápidamente en las superficies cortadas de algunas frutas y otros vegetales como consecuencia del pardeamiento enzimático (Sanromán 1996). Actúa además en forma sinérgica con los antioxidantes debido a su importante acción acomplejante de iones metálicos que, como el Fe(III) y Cu(II), promoverían la oxidación durante los almacenamientos realizados en presencia de oxígeno (Pokorný 2001).

En el presente trabajo se desarrollaron PCs de alginato de sodio portadoras de AA. La composición del alginato usado ($F_{GG} = 0,27$; $F_{MM} = 0,32$; $F_{GM+MG} = 0,40$) fue previamente determinada por dicroísmo circular (De'Nobili *et al.* 2013a). La presencia de ácido cítrico unida al AA podría ser útil para el efecto antioxidante en la interface donde las películas sean aplicadas. También como agente saborizante y como acidificante local. Pero la presencia conjunta del ácido cítrico en las PCs puede afectar la estabilidad del AA y, por lo tanto, el tiempo de vida media del AA como

antioxidante activo en la interface podría verse afectado, positiva o negativamente. Para ello, se estudiaron las cinéticas correspondientes en condiciones de HR (33,3 y 57,7%) y temperatura (25,0°C) constantes, en ausencia de oxígeno para analizar, *específicamente*, la estabilidad del AA a la *hidrólisis*. Se evaluó, simultáneamente, la influencia de dos niveles de glicerol (plastificante) y de dos niveles de HR en la estabilidad del AA.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de las películas

Alginato (Sigma-Adlrich), glicerol como plastificante, sorbato de potasio (antimicrobiano), ácido L-(+)-ascórbico (AA) y CaCl₂.2 H₂O fueron disueltos en agua bajo agitación y calentados a 85 °C a velocidad constante en una plataforma con control de temperatura (Velp Scientifica, Italy) (**Tabla 1**). La solución fue fraccionada en placas de poliestireno. Los geles obtenidos fueron deshidratados bajo convección forzada constante. Se dejaron enfriar las películas a temperatura ambiente, luego fueron desmontadas y almacenadas al resguardo de la luz, a 33,3 y 57,7% de HR y a 25,0°C constantes, bajo vacío.

Se tomaron muestras (películas) a lo largo del almacenamiento para realizar las determinaciones que a continuación se detallan.

Tabla 1: Formulación y rotulación de las PCs

SISTEMA	ACIDO CÍTRICO (g/g alginato)	GLICEROL (g/100g (polímero)	de	SORBATO DE POTASIO (% p/p solución)	DE	ÁCIDO ASCÓRBICO (% p/p solución)
1	0,000	36,6		0,030		0,100
2	0,175	36,6		0,030		0,100
3	0,000	54,8		0,030		0,100
4	0,175	54,8		0,030		0,100

Actividad de agua (a_w)

Fue medida diariamente para determinar cuándo las películas (a_w) se equilibran con la HR ($a_w = \text{HR}\% / 100$) de almacenamiento (33,3 y 57,7%). Para ello se utilizó un equipo Decagon AquaLab (Series 3 Water activity meter, USA), usando soluciones saturadas de sales con actividad de agua conocida, a 25 °C: MgCl₂ ($a_w^\circ = 0,333$), NaBr ($a_w^\circ = 0,577$) y NaCl ($a_w^\circ = 0,752$) (Greenspan 1977).

Determinación de AA

La concentración de AA remanente en las películas muestreadas a cada tiempo, se realizó por el método espectrofotométrico del 2,6-dicloro-fenolindofenol (Rojas y Gerschenson 1991).

Índice de Amarillo (YI)

Fue medido como indicador de pardeamiento (ASTM D-1925, 1995), utilizando un colorímetro Minolta (CM-508d, Japan) con un ángulo de apertura de 1.5 cm de diámetro, iluminante D65 y 2° de ángulo del observador. (León *et al.* 2008). También se midieron los parámetros de color L , a , and b (HunterLab), los cuales están entre $L = 0$ (negro) y $L = 100$ (blanco) para la luminosidad, $-a$ (verde) y $+a$ (rojo), $-b$ (azul) hasta $+b$ (amarillo). Los valores estándar considerados fueron aquellos correspondientes al fondo blanco.

Ph

Fue medido tanto en las soluciones como en las películas, después de equilibradas a la HR de almacenamiento correspondiente. Se utilizó un electrodo combinado de bulbo de vidrio en el primer caso (Phoenix, AZ, USA) y de superficie (Phoenix, AZ, USA) para las películas (Joel *et al.* 1972), en cada caso conectado a un pH-metro (Consort P901, ECC). La calibración fue efectuada con soluciones reguladoras de pH 4.00 and 7.02.

Temperatura de transición vítrea (T_g)

Se utilizó un DSC modulado (Serie Q, TA Instruments, USA) para determinar la T_g (medida en el punto medio) a partir del segundo barrido de temperatura (10°C/min) realizado entre -140 y 40 °C seguido por otro, entre -140 y 200 °C. Se utilizaron ≈ 20 mg de muestra en una cápsula de aluminio (40 μ L) sellada

herméticamente. Se utilizó como referencia una cápsula vacía y cerrada.

Análisis estadístico de resultados

Se realizó a través del ANOVA (α : 0,05) seguido por comparaciones múltiples por pares evaluadas mediante el test de las diferencias significativas de Tukey (Sokal y Rohlf 2000). En el caso de correlaciones, su significatividad fue evaluada de acuerdo a la determinación del coeficiente (r) de Pearson (Bancroft, 1960). Para los análisis indicados se usó el software Statgraphic (versión 5.1, 2001, Rockville, Md., EEUU). Las regresiones no lineales de resultados experimentales se realizaron con la función Solver del Programa Excel de Microsoft (2007, Microsoft Corp., EEUU) y con el software Origin 7.5 SRO (1991-2003 Origin Corporation, EEUU).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron películas homogéneas y flexibles. El pH de las películas sin y con ácido cítrico ($3,73 \pm 0,03$ y $3,63 \pm 0,06$, respectivamente) no difirieron significativamente a lo largo del almacenamiento. El pH de las películas conteniendo ácido cítrico fue ligeramente menor sólo a 57.7% de HR. Las películas resultaron equilibradas a la HR correspondiente (33,3 y 57,7% HR) a las 20 horas de almacenamiento al vacío, aproximadamente, corroborado ello mediante la determinación de la a_w (0,333 y 0,577) de las películas en tiempos sucesivos:

$$a_W^o = \frac{RH\%}{100} \quad (1)$$

La estabilidad a la hidrólisis del AA soportado en estas películas fue determinada, específicamente, mediante el almacenamiento de las mismas en ausencia de aire y a HR conocida y constante (33,3 y 57,7%).

La concentración de AA remanente a cada tiempo t [$C_{AA}(t)$] disminuyó significativamente a lo largo del almacenamiento, ya desde tiempo 0, de acuerdo a una cinética de pseudo-primer orden ($p < 0.05$), tal como puede observarse, a modo de ejemplo, en la **Figura 1** para las películas de alginato, formuladas con ácido cítrico y a dos concentraciones de glicerol, almacenadas a dos niveles de HR, a 25°C y en ausencia de aire.

La cinética experimental responde entonces a la siguiente ecuación cinética:

$$r_{AA} = -\frac{1}{v_{AA}} \frac{dC_{AA}}{dt} = k'_{AA} C_{AA}(t) \quad (2)$$

donde v_{AA} es el coeficiente estequiométrico para el AA en su reacción de hidrólisis (aquí $v_{AA} = 1$); r_{AA} es la velocidad de reacción definida por unidad de volumen a temperatura constante; C_{AA} es la concentración de AA remanente a tiempo t y k_{AA}' es la constante cinética de pseudo-orden uno para la hidrólisis del AA, determinada en ausencia de oxígeno. De la ecuación cinética, se obtiene la expresión integrada:

$$\ln \frac{C_{AA}(t)}{C_{AA}^o} = -k'_{AA} \cdot t \quad (3)$$

donde C_{AA}^o corresponde a la concentración inicial ($t = 0$) de AA. En la literatura ya ha sido reportado este orden de reacción para la destrucción del AA en distintos sistemas, tanto en solución como en sistemas deshidratados (Saguy *et al.* 1978, Rojas y Gerschenson 2001, Torregrosa *et al.* 2006, Burdurlu *et al.* 2006). La constante cinética de hidrólisis del AA (k_{AA}') se reporta en la **Tabla 2**, y es la pendiente obtenida luego del ajuste de los datos experimentales mediante regresión lineal (**Ec. =3**), la cual se muestra como línea continua en la **Figura 1**. Como se puede observar en la **Figura 1**, a una determinada HR (por ejemplo, 57,7%), la estabilidad del AA a la hidrólisis (valores de la pendiente k_{AA}') fue afectada por el nivel de glicerol y, también, por la HR de almacenamiento a 25°C.

En la **Tabla 2** se informan los tiempos de vida media calculados según el orden de reacción obtenido por ajuste (**Ec. = 4**).

$$t_{1/2} = \frac{0,693}{k} \quad (4)$$

El AA soportado en aquellas películas de alginato formuladas con el nivel más bajo de glicerol utilizado para la plastificación y almacenadas a la HR más baja (33,3%) presentó el tiempo de vida medio más largo, los cuales correspondieron a 345 y 254 días en los sistemas 1 y 2 constituidas sin y con ácido cítrico, respectivamente.

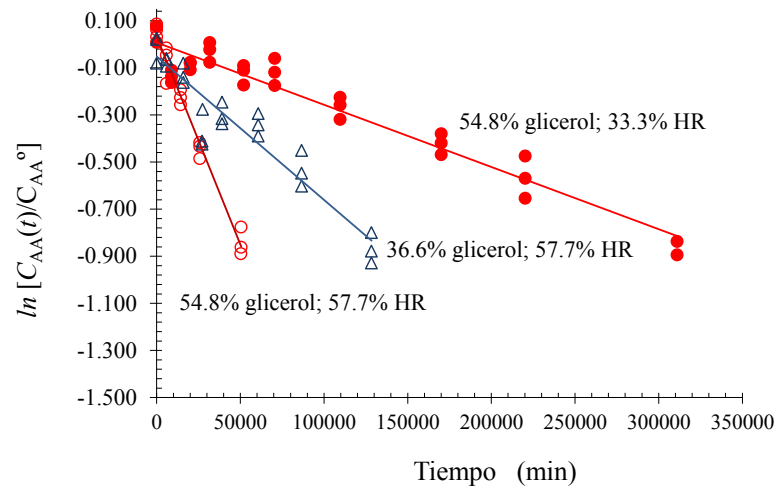


Figura 1: Cinética de hidrólisis del AA soportado en películas de alginato, formuladas con ácido cítrico y a dos niveles de glicerol, almacenadas a dos niveles de humedad relativa (HR), a 25,0°C y en ausencia de aire. Se muestra, a modo de ejemplo, cómo afecta el nivel de HR y el de glicerol.

La degradación del AA por hidrólisis no fue significativamente afectada por la presencia de ácido cítrico sólo a 33,3% de HR. En cambio, a 57.7% de HR, la constante de velocidad de hidrólisis (k_{AA}) aumentó con el agregado de ácido cítrico (**Tabla 2**). Como era de esperarse, la destrucción hidrolítica del AA fue principalmente afectada por la HR de las películas equilibradas ($p < 0.001$), lo que se relaciona directamente con la movilidad del agua en la red polimérica constituyente de la película (el agua es el factor principal responsable de la hidrólisis del AA por ser reactivo, nucleófilo) (León y Rojas 2007; De’Nobili *et al.* 2013b).

La misma fue, en cambio, menos dependiente del nivel de glicerol ($p < 0.05$). Se determinó también la existencia de una interacción entre la HR y el glicerol ($p < 0.001$) en la destrucción hidrolítica del AA. Se sugirió que la presencia previa de glicerol como plastificante en la película facilitaría la penetración del agua en la red polimérica (Pérez *et al.* 2009), produciendo así una plastificación adicional durante el almacenamiento, ello demostrado por el descenso adicional de la temperatura de transición vítrea, T_g , desde -61.70 hasta $-71,83^\circ\text{C}$. El alginato utilizado en el presente trabajo estaba constituido por un 27% de bloques GG, los cuales son los únicos que pueden interactuar o ser entrecruzados por iones Ca^{2+} constituyéndose *junction zones* en conformación de “caja de huevos”. Estas zonas de unión de guluronatos también involucran moléculas de agua (Braccini y Pérez 2001), la cual es agua unida no congelable (Ping *et al.* 2001). Esta agua inmovilizada es la que **no** se encuentra involucrada en las reacciones químicas responsables de la degradación hidrolítica de biomoléculas hidro-sensibles (ej. AA). El resto (73%) de la macromolécula de alginato, está constituido por bloques MM y GM+MG, los cuales no son entrecruzados por iones calcio y, por ello, no pueden inmovilizar agua en la forma no congelable.

Tabla 2: Se informan las constantes^a de velocidad de hidrólisis del ácido L-(+)-ascórbico (k_{AA}) en películas de alginato, así como las de pardeamiento no enzimático de orden cero (k_{YI})^b y de orden combinado cero (k_0)^c y uno (k_1)^c, todas ellas determinadas luego del almacenamiento a HR y 25°C constantes. Además, se reporta el tiempo de vida media ($t_{1/2}$) del AA en las películas.

Por otro lado, el desarrollo del pardeamiento se determinó como el incremento del índice de amarillo (YI%) con el tiempo de almacenamiento. Esto ajustó, estadísticamente ($p < 0.05$), a una reacción de pseudo-orden cero en las películas desarrolladas sin ácido cítrico (**Figura 2**), como ya fuera previamente determinado por De'Nobili *et al.* (2013b) en películas de pectina de bajo metoxilo elaboradas con Ca^{2+} y sin ácido cítrico agregado:

Sistema	Acido cítrico (g/g alginato)	Glicerol (g/100g de polímero)	HR (%)	$k_{AA} \times 10^5$ (min ⁻¹)	$t_{1/2}$ AA (d)	Constantes de velocidad de pardeamiento	
						$k_{YI} \times 10^4$ (YI%·min ⁻¹)	$k_0 \times 10^3$ (YI%·min ⁻¹)
1	-----	36,6	33,3 57,7	0,14 ± 0,01 0,44 ± 0,03	345,2 109,8	0,35 ± 0,04 1,2 ± 0,1	
2	0,164	36,6	33,3 57,7	0,19 ± 0,01 0,60 ± 0,04	254,4 80,6	0,4 ± 0,04 2,4 ± 0,4	
3	-----	54,8	33,3 57,7	0,28 ± 0,02 1,02 ± 0,07	172,6 47,4	0,52 ± 0,05 3,3 ± 0,3	
4	0,164	54,8	33,3 57,7	0,27 ± 0,03 1,77 ± 0,07	179,0 27,3	0,31 ± 0,09 5,1 ± 0,7	

$$\frac{dYI}{dt} = k_{YI} \cdot A$$

donde k_{YI} es la constante cinética de pseudo orden cero para el desarrollo de pardeamiento, A corresponde al YI% alcanzado por la película a un tiempo t de almacenamiento. La expresión integrada de la ecuación cinética resulta, entonces:

$$A(t) - A_0 = k_{YI} \cdot t \quad (6)$$

donde A_0 es el YI% determinado al inicio del almacenamiento ($t = 0$) y $A(t)$ es el YI% medido en las películas a tiempo t de almacenamiento. La constante cinética de pardeamiento (k_{YI}) que se reporta en la **Tabla 2** fue entonces calculada a partir de la pendiente obtenida luego de ajustar, por medio de una regresión lineal (línea continua, **Figura 2**), los datos experimentales.

Puede observarse que k_{YI} aumenta claramente con la HR a la que las películas de alginato fueron equilibradas (**Tabla 2**). Por el contrario, las películas que además soportan ácido cítrico presentaron un aumento no lineal del YI con el tiempo de

^a Se muestra promedio y desvío estándar ($n > 11$).
^b k_{YI} es la constante de velocidad de pardeamiento o pendiente de la regresión lineal que se ajustó con los datos experimentales durante el pardeamiento de las películas, y corresponde a una cinética de pseudo-cero orden.
^c k_0 y k_1 son las constantes de velocidad de orden cero y uno, respectivamente, calculadas a partir de la cinética combinada (ecuación 8) (Pérez-Zúñiga y col., 2000).
 $t_{1/2}$: es el tiempo de vida media del ácido L-(+)-ascórbico en las películas (d : días).

almacenamiento, tal como puede verse en la **Figura 2** (sistemas 2 y 4). Estos puntos experimentales ajustaron según una cinética combinada de orden cero y uno (líneas curvas continuas; **Figura 2**), un modelo de pardeamiento de dos escalones postulado por Pérez-Zúñiga *et al.* (2000):

$$\frac{dA}{dt} = k_0 - k_1 A \quad (4.7)$$

donde k_0 y k_1 son, respectivamente, las constantes cinéticas de orden cero y uno para el desarrollo del pardeamiento, A corresponde al YI% y t es el tiempo de almacenamiento. Esta cinética (**Ec. 7**) considera una *primera fase rápida* de formación de compuestos coloreados, la cual es descrita por la ecuación de orden cero, seguida por una *segunda fase lenta* de disociación de algunos productos coloreados, presumiblemente descrita por la ecuación de primer orden. Integrando la **ecuación 7** entre $A(t)$ y $A_0(t=0)$ para dA y entre t y $t=0$ para dt , resulta:

$$A(t) = \frac{k_0}{k_1} - \left(\frac{k_0}{k_1} - A_0 \right) \cdot e^{-k_1 t} \quad (\text{Ec. 8})$$

Las constantes cinéticas de pardeamiento k_0 y k_1 obtenidas ajustando los datos experimentales mediante la **ecuación 8** se resumen en la **Tabla 2**. En general, aumentaron significativamente ($p < 0,05$) con la HR a la que las películas fueron equilibradas. El nivel de glicerol (plastificante) utilizado

para el desarrollo de las películas no afectó significativamente las constantes cinéticas de pardeamiento (**Tabla 2**).

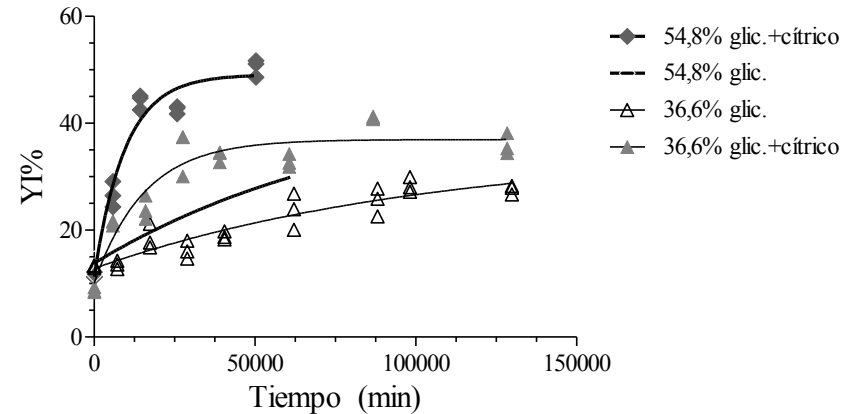


Figura 2: Cinética del pardeamiento desarrollado en películas de alginato que fueron equilibradas a 57,7% de HR, en ausencia o presencia de ácido cítrico.

En general, el pardeamiento fue inicialmente más rápido en las **películas portadoras de ácido cítrico (Figura 2)**. Sin embargo, a los tiempos de almacenamiento más largos, el desarrollo de pardeamiento que ocurre de acuerdo a una cinética de pseudo-orden cero (Ecuación 5) en las películas sin ácido cítrico, puede finalmente producir valores de YI más altos que en el otro caso (**Figura 2**). Por lo tanto, la presencia de ácido cítrico en las películas modifica las cinéticas (y por lo tanto el mecanismo) de pardeamiento, disminuyendo el desarrollo del mismo a los tiempos de almacenamiento más largos, pero no modifica la

cinética de destrucción del AA. Por otro lado, la constante cinética de pardeamiento determinada en las películas sin ácido cítrico (k_{VI}) fue solamente afectada por la HR a la que las películas fueron almacenadas ($p < 0,001$) y no así por el nivel de glicerol (plastificante) utilizado.

CONCLUSIONES

Se desarrollaron películas de alginato ($F_{GG}=0,27$; $F_{MM}=0,32$; $F_{GM+MG}=0,40$) con actividad antioxidante debida a la presencia de AA. Se estudió el efecto sobre la estabilidad del AA, de la presencia conjunta de ácido cítrico, como posible antioxidante secundario. Se evaluó además la influencia de dos niveles de glicerol como plastificante, en las películas. Se determinó que la presencia de ácido cítrico afectó la estabilidad del AA a la hidrólisis en las películas de alginato que fueron equilibradas a la mayor humedad relativa (57.7%). La HR y el nivel de glicerol utilizado influyeron separadamente y aún así a través de su interacción en la estabilidad del AA. El agua fue el factor principal responsable de la hidrólisis del AA y el glicerol facilitaría la penetración del agua del ambiente de almacenamiento en la red polimérica, produciendo una plastificación adicional a la del glicerol. Por otro lado, sólo el incremento de los niveles de HR condujo a un aumento en las constantes cinéticas de pardeamiento según una cinética de pseudo-orden cero, cuando las películas se formularon sin ácido cítrico. En cambio, en presencia de ácido cítrico, la cinética de pardeamiento cambió a un orden combinado de cero y primer orden, lo que trae como consecuencia un desarrollo de pardeamiento ciertamente menor a tiempos de almacenamiento largos de las películas. La presencia de ácido cítrico en PCs conteniendo AA afecta la vida útil de las mismas como interfaces antioxidantes.

BIBLIOGRAFÍA

- Atarés L, Pérez-Masiá R y Chiralt A. 2011. The role of some antioxidants in the HPMC film properties and lipid protection in coated toasted almond. *Journal of food engineering*, 104:649-656.
- Bancroft H. 1960. *Introducción a la Bioestadística*. EUDEBA: Editorial Universitaria de Buenos Aires. Ciudad de Buenos Aires, Argentina, pp. 180-188.
- Braccini I y Pérez S. 2001. Molecular basis of Ca^{2+} -induced gelation in alginates and pectins: the egg box model revisited. *Biomacromolecules*, 2:1089-1096.
- Burdurlu HS, Koca N y Karadeniz F. 2006. Degradation of vitamin C in citrus juice concentrates during storage. *Journal of Food Engineering*, 74:211-216
- De'Nobili MD, Curto LM, Delfino JM, Soria M, Fissore EN y Rojas AM. 2013a. Performance of alginate films for retention of L-(+)-ascorbic acid. *International Journal of Pharmaceutics*, 450, 95-103.
- De'Nobili MD, Perez CD, Navarro DA, Stortz CA y Rojas AM. 2013b. Hydrolytic stability of L-(+)-ascorbic acid in low methoxyl pectin films with potential antioxidant activity at food interfaces. *Food Bioprocess Technol*. 6: 186-197.
- Greenspan L. 1977. Humidity fixed points of binary saturated aqueous solutions. *Journal of Research of the National Bureau of Standards*, 81 A(1), 89-96.
- Han JH y Gennadios A. 2005. Edible films and coatings: a review. In: Jung H. Han, (Ed.), *Innovations in Food Packaging*. London, Elsevier Ltd., pp. 242.

- Jothisarawathi S, Babu B, Rengasamy R 2006. Seasonal studies on alginate and its composition II: *Turbinaria conoides* (J.Ag.) Kütz. (Fucales, Phaeophyceae). *Journal of Applied Phycology*, 18: 161–166.
- Kitts DD. 1997. An evaluation of the multiple effects of the antioxidant vitamins. *Trends in Food Science & Technology*, 8:198–203.
- Lai, H.-M., Padua, G. W. 1997. Properties and microstructure of plasticized zein films. *Cereal Chemistry*, 74(6):771–775.
- Lee KY y Mooney DJ. 2012. Alginate: properties and biomedical applications. *Prog. Polym. Sci.*, 37:106–126.
- León PG, Lamanna ME, Gerschenson LN, Rojas AM. 2008. Influence of composition of edible films based on gellan polymers on L-(+)-ascorbic acid stability. *Food Research International*, 41(6): 667-675.
- León PG, Rojas AM. 2007. Gellan gum films as carriers of L-(+)-ascorbic acid. *Food Research International*, 40:565–575.
- Levine M y Morita K. 1985. Ascorbic acid in endocrine systems. *Vitamins and hormones* (Vol. 42, pp. 3). New York: Academic Press.
- Miková K. 2001. The regulation of antioxidants in food. In J. Pokorny, N. Yanishlieva, y M. Gordon (Eds.), *Antioxidants in foods. Practical applications*. Cambridge, England: CRC Press. Woodhead Publishing Limited, chapter 11.
- Morrise, PA y O' Brien, NM. (1998). Dietary antioxidants in health and disease. *International Dairy Journal*, 8:463–472.
- Pérez CD, Flores SK, Marangoni AG, Gerschenson LN y Rojas AM. 2009. Development of a High Methoxyl-Pectin Edible Film for Retention of L-(+)-Ascorbic Acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57:6844-6855.
- Perez-Zuniga FJ, Bravo Abad F y Cartagena LG. 2000. Kinetic of non-enzymatic oxidation reactions: Browning in white wines. *Eur. Food Res. Technol.*, 211:252.
- Ping ZH, Nguyen QT, Chen SM, Zhou JQ y Ding YD. 2001. States of water in different hydrophilic polymers-DSC and FTIR studies. *Polymer*, 42:8461-8467.
- Pokorný J. 2001. Natural antioxidant functionality during food processing. *Antioxidants in Foods*, 14-334.
- Rojas AM y Gerschenson LN. 1991. Determinación de vitamina C en productos frutihortícolas. *Anales de la Asociación Química Argentina*, 79: 97-106.
- Rojas AM, Gerschenson LN. 2001. Ascorbic acid destruction in aqueous model systems: an additional discussion. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(15):1433-1439.
- Saguy I, Mizrahi S, Villota R y Karel M. 1978. Accelerated method for determining the kinetic model of ascorbic acid loss during dehydration. *Journal of Food Science*, 43:1861-1864.
- Sanromán A 1996. Influencia de la concentración de Nitrógeno en la producción de ácido cítrico por *Aspergillus Níger* inmovilizado en un reactor de lecho fluidizado, *Afinidad*, 53(462):131–134.
- Sokal RR y Rohlf JB. 2000. *Biometry. The principles and practice of statistics in biological research*. San Francisco: WH Freeman and Company, pp 253-380.
- Stabler C, Wilks K, Sambanis A y Constantinidis I. 2001. The effects of alginate composition on encapsulated _TC3 cells. *Biomaterials*, 22:1301–1310.
- Torregrosa F, Esteve MJ, Frígola A y Cortés C. 2006. Ascorbic acid stability during refrigerated storage of orange–carrot juice treated by high pulsed electric field and comparison with pasteurized juice. *Journal of Food Engineering*, 73(4):339-345.

Villota R y Karel M. 1980. Prediction of ascorbic acid retention during drying. Moisture and temperature distribution in a model system. *Journal of Food Processing and Preservation*, 4:111–134.

Weisburger JH. 1999. Mechanisms of action of antioxidants as exemplified in vegetables, tomatoes and tea. *Food and Chemical Toxicology*, 37:943-948.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo financiero de la Universidad de Buenos Aires, CONICET y ANPCyT.

USO DE HARINAS PROVENIENTES DE RAÍCES TUBEROSAS (PACHYRHIZUS AHIPA Y MANIHOT ESCULENTA) PARA LA OBTENCIÓN DE GALLETITAS LIBRES DE GLUTEN

Doporto M.C.¹, Sacco F.¹, Viña S.Z.^{1,2}, García M.A.¹

1: CIDCA (Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos), Facultad Ciencias Exactas Universidad Nacional de La Plata (UNLP) – CONICET La Plata, 47 y 116 S/Nº, La Plata (B1900AJJ), Buenos Aires, Argentina

2: Curso Bioquímica y Fitoquímica, Laboratorio de Investigación en Productos Agroindustriales (LIPA), Facultad Ciencias Agrarias y Forestales (UNLP).

magarcia@quimica.unlp.edu.ar

Resumen: Las raíces de mandioca y ahipa son fuentes de harina y almidón libres de gluten. El objetivo del trabajo fue formular, caracterizar y estudiar la conservación de galletitas libres de gluten a base de almidón de maíz parcialmente sustituido (25%) con harina de ahipa (25HA) o mandioca (25HM). Los controles (C) se elaboraron con 100% almidón de maíz. Se caracterizaron las masas y productos horneados (200°C-7,5 min) mediante análisis de perfil de textura y medida de la fuerza máxima en compresión (sonda Volodkevich), respectivamente; se evaluó color superficial; a_w y contenido de humedad. Se analizó la composición química de los productos y se realizó una evaluación sensorial. Las galletitas con 25HA presentaron mayor contenido de proteínas (2,6±0,1%) y fibra dietaria total (5,0±1,4%). Los ensayos de textura mostraron resultados similares para las galletitas. Las

diferencias de color (ΔE) respecto al control fueron 14,8±0,9 para 25HA y 12,0±0,8 para 25HM. Las galletitas formuladas con ambas harinas tuvieron buena aceptabilidad sensorial, incluso mayor que las controles. Las isotermas de sorción indicaron estabilidad aceptable. Las harinas de ahipa y mandioca podrían sustituir parcialmente al almidón de maíz para obtener galletitas libres de gluten, nutricionalmente balanceadas y con buena aceptación de los consumidores.

Palabras clave: Harinas no tradicionales, alimentos para celíacos, composición química, textura, conservación

Abstract: Cassava and ahipa roots are sources of gluten-free flour and starch. The aim of this study was to develop, characterize, and analyze the conservation of gluten-free biscuits made with corn starch partially replaced (25%) with ahipa (25HA) or cassava flour (25HM). Controls (C) were prepared with 100% corn starch. The pastries and baked products (200°C-7.5 min) were characterized by texture profile analysis and measurement of the maximum force in compression (Volodkevich probe), respectively; surface color, a_w , and moisture content were evaluated. The chemical composition of the products was analyzed and a sensory evaluation test was conducted. Cookies with 25HA had higher protein (2.6±0.1%) and total dietary fiber (5.0±1.4%) content. Texture tests showed similar results for both formulations. Color difference (ΔE) compared to the control was 14.8±0.9 and 12.0 ±0.8 for the formulations 25HA and 25HM, respectively. The sensory test showed that the biscuits made with ahipa and cassava flour had good sensory acceptability, even greater than the control's. Sorption isotherms indicated

acceptable stability for the products. As a final conclusion, ahipa and cassava flour could partially substitute corn starch for the elaboration of gluten-free biscuits, which were nutritionally balanced and showed good consumer acceptance.

Keywords: Non-traditional flours, gluten-free foods, chemical composition, texture, conservation

INTRODUCCIÓN

Hace algunos años, los productos libres de gluten eran prácticamente desconocidos, excepto en comercios especialmente dedicados a alimentos saludables. Actualmente son regularmente ofrecidos en los supermercados e hipermercados, en ocasiones junto con otros alimentos especiales tales como productos para diabéticos o para individuos con intolerancia a la lactosa. A nivel mundial, alrededor del 20% de los consumidores señalan que evitan de manera permanente ciertos alimentos, debido a alergias o intolerancias, mientras que otro 22% afirma hacerlo ocasionalmente.

Un grupo muy diverso de consumidores adquieren productos sin gluten. El principal segmento incluye aquéllos con enfermedad celíaca, para quienes una dieta estricta sin gluten es el único tratamiento para controlar la enfermedad y reducir el riesgo de otras complicaciones. Sin embargo, es importante considerar que los productos libres de gluten pueden ser adquiridos por personas con una amplia variedad de otras condiciones, incluyendo la sensibilidad al gluten no celíaca, la alergia al trigo, el síndrome de colon irritable, entre otras. Estas consideraciones dan cuenta de la dimensión que puede cobrar este mercado en particular.

Las galletitas dulces sin gluten que existen en el mercado son, en general, productos de calidad variable donde se reemplaza la harina de trigo por mezclas de almidones o harinas libres de gluten como la obtenida a partir de la mandioca (*Manihot esculenta*).

La ahípa (*Pachyrhizus ahípa*), materia prima promisoría para la obtención de harina con posibilidad de emplearse en la elaboración de productos libres de gluten, es una Leguminosa de origen andino, productora de raíces tuberosas que acumulan almidón como compuesto de reserva. Esta especie reúne las ventajas de un mayor contenido de proteína (7,9-11,5%) que la mayoría de las raíces y tubérculos (Dini *et al.* 2013).

El objetivo del presente trabajo fue formular, caracterizar y estudiar la conservación de galletitas libres de gluten elaboradas a base de almidón de maíz parcialmente sustituido (25%) con harina de ahípa o mandioca.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se elaboraron galletitas a base de almidón de maíz: las controles (C) con 100% almidón de maíz y otras parcialmente sustituidas con 25% de harina de ahípa (25HA) y mandioca (25HM). Además del almidón de maíz, los restantes ingredientes empleados en la elaboración fueron huevos, yemas, azúcar, manteca y leudante. Las masas (cortadas en discos de 2 cm de diámetro y 8 mm de espesor) fueron horneadas a 200° C durante 7,5 minutos en un horno eléctrico estático (Ariston FM87-FC, Italia) bajo convección natural.

Se caracterizó la textura de las masas y productos horneados empleando un analizador de textura TAXT2i Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd, Gran Bretaña), a través del análisis del perfil de textura (TPA) para las masas crudas y la medida de la fuerza máxima en compresión empleando la sonda Volodkevich, para los productos horneados. Las condiciones del TPA fueron las siguientes: se utilizó una celda de carga de 25 kg, con la

sonda SMSP/75 (plato de aluminio de 7,5 cm de diámetro) operado en el modo compresión, a una velocidad constante de $0,5 \text{ mm s}^{-1}$. Se midió la firmeza (N), adhesividad (N mm) y cohesividad de discos de masa (3 cm de diámetro y 8 mm de espesor) acondicionados a 4° C durante 30 minutos, luego de dos ciclos de compresión (20%). Los parámetros gomosidad (N), masticabilidad y consistencia (N mm) fueron calculados según Andrés *et al.* (2006) y Bourne *et al.* (1978). Para las galletitas horneadas se empleó la sonda Volodkevich Bite Jaws y se midió la fuerza máxima en compresión (N) y el área bajo la curva (N mm), que se encuentra directamente asociada a la energía necesaria para cortar la muestra (Olivera y Salvadori, 2012).

Se analizó el color superficial con un colorímetro (Konica Minolta CR 400 Series, Japón); los resultados fueron expresados en términos de luminosidad (L^*), coordenada rojo-verde (a^*), azul-amarillo (b^*), ángulo hue (h°) y Chroma (C^*). En el caso de las galletitas horneadas se calculó también la diferencia de color (ΔE) con respecto a la formulación control de acuerdo a la ecuación (1):

$$\Delta E = \sqrt{((a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2 + (L^* - L_0^*)^2)} \quad (1)$$

siendo a_0^* , b_0^* y L_0^* los valores de las coordenadas a^* , b^* y L^* para la formulación control (100% de almidón de maíz).

Se midió la actividad acuosa (Water Activity Meter Aqualab series 3, Decagon Devices Inc., USA) y el contenido de humedad, mediante deshidratación de las masas y productos horneados, en

estufa a 105° C hasta peso constante. Estas medidas se realizaron por triplicado.

Se determinó la composición química de las galletitas (cenizas totales, fracción liposoluble, proteínas calculadas en base al contenido de nitrógeno total determinado por el método Kjeldahl) mediante las técnicas de referencia (AOAC, 1990). Se determinó el contenido de fibra dietaria total mediante un kit enzimático (K-TDFR 05/12 Megazyme©, Irlanda) a partir de 1,0000 g de galletitas molidas, previamente desengrasadas mediante el método de Soxhlet. Los resultados finales se expresaron en porcentaje (%).

Se realizó un ensayo de evaluación sensorial (aceptabilidad por atributos) de las galletitas mediante un panel de 60 consumidores no entrenados. Se utilizó una escala hedónica semi-estructurada para evaluar los atributos color, sabor, textura y aceptabilidad general de las muestras presentadas al azar y codificadas mediante números aleatorios de tres dígitos.

Por último se estudió la estabilidad del producto a temperatura ambiente (20° C) analizando las isotermas de sorción (adsorción) y realizando un almacenamiento durante 18 días en envases de polietileno de baja densidad. Las isotermas de adsorción se obtuvieron por el método gravimétrico estático estandarizado por el "European Cooperative Project COST 90" (Spiess y Wolf 1983) que determina el contenido de humedad en equilibrio (X) en función de la actividad acuosa (a_w). Para ello se colocaron las galletitas previamente molidas y pesadas en un desecador con CaCl_2 anhidro durante 7 días para deshidratar completamente las muestras. Luego, se pesaron y se transfirieron a recipientes herméticos que contenían soluciones saturadas de diferentes sales cuyas actividades acuosas variaron entre 0,11 y 0,91 (Thys

et al. 2010). Las muestras se almacenaron a 20° C y se pesaron diariamente hasta alcanzar el equilibrio. Finalmente, se determinó la humedad de las muestras secando en estufa a 105° C hasta peso constante. Las isotermas de adsorción se determinaron por duplicado. Los datos experimentales obtenidos se ajustaron matemáticamente con el modelo de GAB (Guggenheim, Anderson y de Boer) según la ecuación 2, utilizando el módulo de regresión no lineal del programa Systat 10.0 (SYSTAT, Inc., Evanston, IL, USA). Se estimaron los valores de los parámetros correspondientes al modelo y la bondad de ajuste del mismo a través del coeficiente de correlación (r^2).

$$X = \left[\frac{(X_m K C_G a_w)}{(1 - K a_w)(1 - K a_w + C_G K a_w)} \right] \quad (2)$$

donde: X_m : contenido de agua de la monocapa (kg agua/ kg sólido seco); C_G : constante de Guggenheim, dependiente de la temperatura; K : calor de sorción de las multicapas.

Con el fin de evaluar los cambios en los atributos organolépticos durante el almacenamiento, las galletitas formuladas se colocaron en bolsas de polietileno de baja densidad marca Ziploc® con cierres deslizables y se resguardaron en una habitación a 20° C y 64,5% de humedad relativa. El tiempo de almacenamiento fue de 18 días y durante el mismo se determinó la actividad acuosa, el color superficial (diferencia de color ΔE) y la textura (sonda Volodkevich). La variación en el peso de las muestras envasadas se llevó a cabo pesando las bolsas (con las galletitas) al inicio del almacenamiento y el día de análisis

correspondiente y se expresó en porcentaje (%) respecto al peso inicial.

Diseño experimental y análisis estadístico: se realizaron análisis multifactoriales de varianza mediante el uso del software InfoStat versión 2013. Las diferencias se determinaron mediante el test de la diferencia mínima significativa de Fisher (LSD) usando un nivel de significación $p=0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de las masas

A partir de las curvas obtenidas en el ensayo de perfil de textura se evaluaron los diferentes parámetros que caracterizan a las masas crudas estudiadas. La masa con harina de mandioca fue la que presentó los mayores valores de firmeza, gomosidad, masticabilidad y consistencia, mientras que los valores más bajos de dichos parámetros correspondieron a la masa control (**Tabla 1**).

La cohesividad es un parámetro relacionado con las fuerzas que vinculan a los diferentes componentes de la matriz (Roopa y Bhattacharya 2008). Al respecto, no se observaron diferencias significativas ($p>0,05$) en los valores de las masas sustituidas con harina de ahípa y mandioca respecto de la masa control. Esto indicaría que los ingredientes presentes se encontrarían integrados de manera similar en las masas analizadas. Las masas preparadas con 100% de almidón de maíz (control) y la que contenía harina de ahípa fueron las más adhesivas (**Tabla 1**).

Tabla 1: Parámetros del análisis de perfil de textura de las masas crudas

Masa	Firmeza (N)	Cohesividad	Gomosidad (N)	Adhesividad (N mm)	Masticabilidad	Consistencia
C	31,6±1,9 ^a	0,23±0,02 ^a	7,3±0,7 ^a	4,1±0,6 ^b	7,3±0,6 ^a	0,77±0,03 ^a
25HA	38,5±1,3 ^b	0,24±0,01 ^a	9,2±0,3 ^b	4,1±1,3 ^b	9,2±0,3 ^b	0,74±0,03 ^a
25HM	68,2±4,3 ^c	0,22±0,01 ^a	14,9±1,2 ^c	0,23±0,01 ^a	14,9±1,2 ^c	0,76±0,03 ^a

Nota: C: control (100% almidón de maíz); 25HA: masa con 25% harina de ahípa + 75% almidón de maíz; 25HM: masa con 25% harina de mandioca + 75% almidón de maíz. Los valores informados corresponden a las medias ± las desviaciones estándar. Datos acompañados por la misma letra en una misma columna, no difieren significativamente ($p>0,05$).

Los parámetros luminosidad (L^*), hue (h°) y Chroma (C^*) de las masas crudas ensayadas se presentan en la **Tabla 2**. Los valores más altos correspondieron a la masa control (C); el valor de luminosidad de esta masa (88,7) indicaría que la misma es la más clara de las elaboradas.

El valor del ángulo hue (h°) de la masa control indicó la tonalidad amarilla de las muestras, mientras que las masas sustituidas mostraron tonalidades más pardas. En cuanto al atributo Chroma, la masa con harina de ahípa exhibió el valor más bajo (25,4) asociado a un color menos saturado.

Tabla 2: Parámetros colorimétricos L^* , h° y Chroma (C^*) para las masas crudas

Masa	L^*	h°	C^*
C	88,7±1,3 ^c	98,4±0,3 ^c	31,4±1,0 ^c
25HA	77,5±0,7 ^b	87,7±0,3 ^b	25,4±1,0 ^a
25HM	73,6±2,1 ^a	84,7±0,5 ^a	28,6±1,1 ^b

Nota: C: control (100% almidón de maíz); 25HA: masa con 25% harina de ahípa + 75% almidón de maíz; 25HM: masa con 25% harina de mandioca + 75% almidón de maíz. Los valores informados corresponden a las medias ± las desviaciones estándar. Datos acompañados por la misma letra en una misma columna, no difieren significativamente ($p>0,05$).

Los valores de a_w y el contenido de humedad variaron entre 0,77±0,03^a y 18,6-21,4% respectivamente, obteniéndose los valores más bajos de ambos parámetros en las masas preparadas con harina de ahípa (25HA).

Caracterización de las galletitas formuladas

Los resultados del análisis de compresión realizado con la sonda Volodkevich Bite Jaws sobre las galletitas estudiadas se muestran en la **Tabla 3**.

Tabla 3: Parámetros texturales de las galletitas horneadas a 200° C-7,5min

Formulación	Fuerza máxima (N)	Área (N mm)
C	3,5±0,7 ^a	8,8±1,3 ^a
25HA	7,1±0,6 ^b	28,3±2,9 ^b
25HM	7,2±0,6 ^b	27,1±2,3 ^b

Nota: C: control (100% almidón de maíz); 25HA: producto elaborado con 25% harina de ahípa + 75% almidón de maíz; 25HM: producto elaborado con 25% harina de mandioca + 75% almidón de maíz. Los valores informados corresponden a las medias ± las desviaciones estándar. Datos acompañados por la misma letra en una misma columna, no difieren significativamente ($p>0,05$).

Las galletitas formuladas con almidón de maíz parcialmente sustituido con harina de ahípa y de mandioca (25HA y 25HM) mostraron los mayores parámetros texturales respecto a la

galletita control y sin diferencias significativas entre las mismas ($p>0,05$). La textura de los productos horneados sin gluten es principalmente atribuible a la gelatinización del almidón y fusión de los azúcares (Gallagher 2002).

Tabla 4: Diferencias de color de las galletitas formuladas respecto de las galletitas controles

Formulación	ΔE
C	0,00±0,00 ^a
25HA	14,8±0,9 ^c
25HM	12,0±0,8 ^b

Nota: C: control (100% almidón de maíz); 25HA: producto elaborado con 25% harina de ahípa + 75% almidón de maíz; 25HM: producto elaborado con 25% harina de mandioca + 75% almidón de maíz. Los valores informados corresponden a las medias \pm las desviaciones estándar. Datos acompañados por la misma letra en una misma columna, no difieren significativamente ($p>0,05$).

La actividad acuosa y el contenido de humedad brindan información complementaria acerca de un sistema. Estos parámetros, medidos en los productos horneados control fueron $0,620\pm 0,005$ y $10,1\pm 0,3\%$, respectivamente; mientras que cuando se empleó harina de mandioca, los valores registrados fueron $a_w=0,547\pm 0,002$ y $8,53\pm 0,05\%$, para el porcentaje de humedad. Estas formulaciones presentan los mayores contenidos de almidón lo que sugiere una mayor interacción de este polisacárido con el agua. Las galletitas preparadas con harina de ahípa exhibieron los valores más bajos de a_w y contenido de humedad ($0,516\pm 0,001$ y $8,4\pm 0,3\%$, respectivamente).

En cuanto a la composición química de las galletitas estudiadas, el contenido de cenizas totales fue significativamente mayor en las galletitas elaboradas con harina de ahípa ($0,84\pm 0,02\%$)

respecto de la galletita control ($0,67\pm 0,04\%$). El mayor contenido de proteínas que posee la galletita elaborada con esta harina ($2,6\pm 0,1\%$) se corresponde con la composición química de la misma (Doporto *et al.* 2011), mientras que la galletita control realiza un menor aporte de proteínas ($1,3\pm 0,1\%$). No se observaron diferencias significativas ($p>0,05$) en el contenido de lípidos ($17\pm 1\%$). El contenido de fibra dietaria total en la galletita con harina de ahípa fue más alto ($5,0\pm 1,4\%$) que en las control ($1,9\pm 0,8\%$), ya que la harina de ahípa puede considerarse como fuente natural de fibra.

Evaluación sensorial del producto horneado

En general, el 75% de los panelistas calificó con puntajes iguales o mayores a 7 al color de las galletitas elaboradas con harina de ahípa (25HA), prefiriéndolas a las galletitas control y con harina de mandioca (25HM).

En cuanto al sabor, la más aceptada fue la galletita control, posiblemente por ser un producto con el que los evaluadores se encuentran más familiarizados (**Figura 1**). Con respecto al atributo textura, la galletita que presentó mayor aceptación fue la formulada con harina de mandioca (69%); los consumidores asociaron las características texturales de las galletitas control a las de un "producto arenoso", siendo éstas relativamente menos aceptables para el panel sensorial, en cuanto al atributo textura.

En la **Figura 2** se presentan los histogramas de las galletitas evaluadas en el panel sensorial. La aceptabilidad general de los productos estudiados fue buena, siendo 7 el puntaje predominante (**Figura 2**). La distribución en el histograma de la galletita con harina de ahípa tiene un sesgo hacia los valores de mayor puntuación de la escala hedónica (7 y 8). Este hecho es

favorable para un posible lanzamiento al mercado, puesto que la aceptación general podría ser similar a la de galletitas elaboradas exclusivamente con almidón de maíz, que habitualmente se ofrecen en los comercios y góndolas de productos libres de gluten.

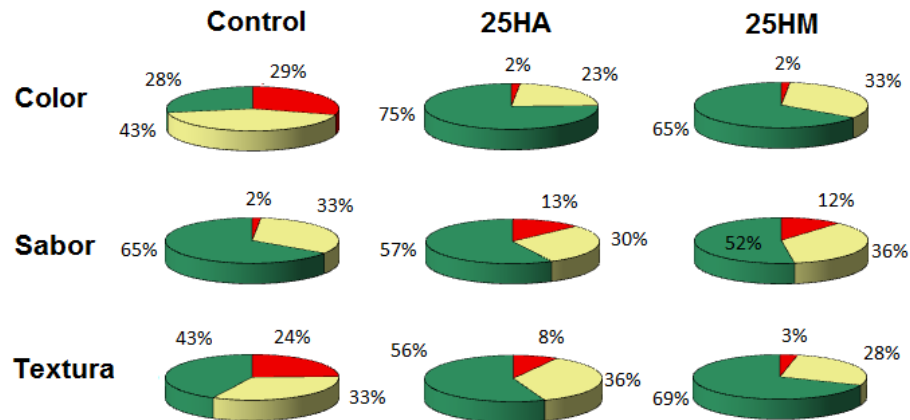


Figura 1: Atributos evaluados (color, sabor y textura) de las galletitas control (100% almidón de maíz), con 25% harina de ahípa (25HA) y con 25% harina de mandioca (25HM).

Nota: Los datos informados corresponden a los porcentajes (%) obtenidos para las diferentes puntuaciones a partir de la evaluación sensorial de las galletitas. Los valores de la escala hedónica utilizada se agruparon en tres rangos: 1-3 (me disgusta), 4-6 (me es indiferente) y 7-9 (me gusta mucho).

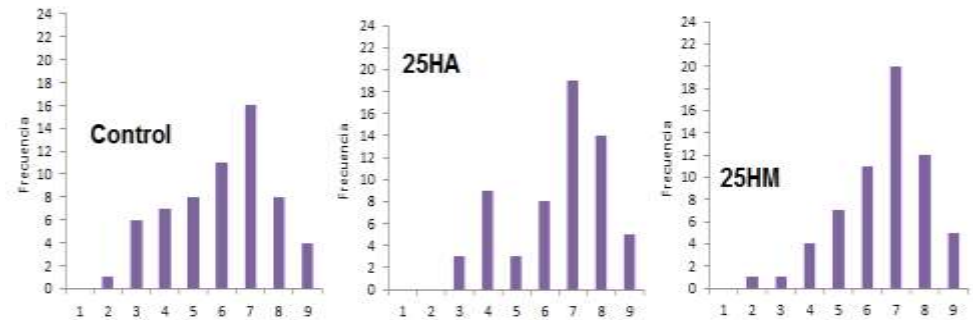


Figura 2: Aceptabilidad general de las galletitas control (100% almidón de maíz), con 25% harina de ahípa (25HA) y con 25% harina de mandioca (25HM).

Estabilidad de los productos horneados: isotermas de sorción

Las isotermas de sorción son importantes para el análisis y diseño de varios procesos de transformación de alimentos, tales como secado, mezcla y envasado de los mismos. Además permiten predecir los cambios en la estabilidad de los alimentos y en la elección del material de empaque adecuado. La **Figura 3** muestra los valores experimentales del contenido de agua de equilibrio (g agua/g materia seca), en función de la actividad acuosa (a_w) a temperatura constante (20° C) para las galletitas formuladas; se observa que el contenido de agua de equilibrio aumenta con el valor de a_w . Las curvas presentaron un comportamiento sigmoideo tipo II según BET, característico de productos solubles causado por la combinación de efectos coligativos, capilares e interacciones de superficie-agua. Esta

isoterma muestra una tendencia asintótica conforme la actividad de agua se acerca a la unidad. Resultados similares se describen para las isotermas de harina obtenida a partir de semillas de *Araucaria angustifolia* (Thys *et al.* 2010).

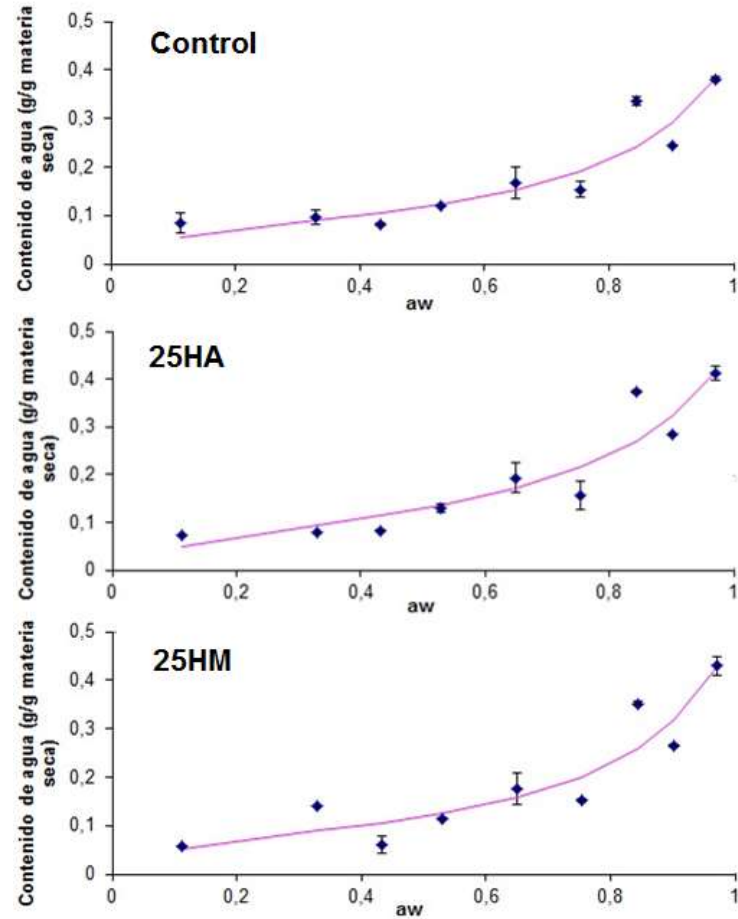


Figura 3: Isotermas de sorción a 20° C de las galletitas control (100% almidón de maíz), con 25% harina de ahípa (25HA) y con 25% harina de mandioca (25HM).

Nota: Los símbolos corresponden a los datos experimentales con su desviación estándar, en tanto que las líneas señalan el ajuste del modelo de GAB.

El modelo matemático de GAB (2) es uno de los más utilizados en ciencias de los alimentos debido a que sus parámetros tienen significado físico, ya que el calor de sorción y el contenido de agua de la monocapa (X_m), son indicativos de la estabilidad del producto. En la **Tabla 5** se muestran los parámetros estimados y la bondad de ajuste del modelo de GAB para las galletitas estudiadas. Los valores estimados del contenido de agua de la monocapa (X_m) de las muestras resultaron similares entre sí (**Tabla 5**), siendo en todos los casos inferiores a 0,1 g/g, valor que Labuza (1984) define como límite superior de estabilidad para alimentos secos. Por lo tanto, los productos obtenidos podrían considerarse estables según el criterio expuesto.

Tabla 5: Parámetros del ajuste del modelo de GAB para las isotermas de sorción de las galletitas elaboradas con 100% almidón de maíz (control), 25% harina de ahípa (25HA) y 25% harina de mandioca (25HM).

Parámetro	Control	25HA	25HM
X_m	0,073	0,087	0,074
K	0,836	0,820	0,855
C_G	20,968	10,362	16,217
R^2	0,965	0,961	0,960

Nota: X_m , contenido de agua de la monocapa (g agua/g materia seca); C_G , constante de Guggenheim, dependiente de la temperatura; K, calor de sorción de las multicapas y R^2 , coeficiente de correlación.

El valor de X_m encontrado a 20° C para la harina de ahípa fue 0,072 g agua/g materia seca (Doporto *et al.* 2012), valor inferior al encontrado para la galletita elaborada con dicha harina (0,087 g agua/g materia seca). En cambio para la harina de mandioca este parámetro (0,082 g agua/g materia seca; Doporto *et al.* 2012) fue superior al hallado en su galletita derivada.

Los valores obtenidos de X_m a 20° C para las harinas de ahípa, mandioca y sus productos derivados fueron menores que los informados para harina de piñón, comprendidos en el rango 0,05 y 0,07 g de agua/g de sólidos secos (Cladera-Olivera *et al.* 2009).

Evaluación de los atributos de calidad de los productos horneados durante el almacenamiento

Las galletitas envasadas y almacenadas (a 20° C por 18 días) presentaron, en el tiempo, un aumento en la actividad acuosa, debido probablemente al ligero aumento del contenido de humedad de las muestras.

En cuanto al cambio en el peso registrado de los productos conservados, a los 14 días de almacenamiento el mismo aumentó un 6,8% para las galletitas control, un 2,4% para las preparadas con harina de mandioca, y un 4% para las formuladas con harina de ahípa.

Estas variaciones pueden atribuirse a la permeabilidad al vapor de agua del material de envase (polietileno de baja densidad, LDPE). Este material presenta una permeabilidad relativamente alta a 23° C y 0% humedad relativa y una velocidad de transmisión de vapor de agua a 38° C y 90% de HR de 16-24 g/m² día. Otros autores informan una permeabilidad al vapor de agua de $2,4 \times 10^{-13}$ (g/msPa), (Bertuzzi *et al.* 2002).

La diferencia de color (ΔE), referida a las galletitas en el inicio del almacenamiento, mostró un aumento inicial a los 4 días, y luego se mantuvo aproximadamente constante hasta el día 12, donde cada producto exhibió variaciones que pueden correlacionarse, principalmente, con la luminosidad (L^*), en el caso de las galletitas control (100% almidón de maíz) y con los valores de a^* de las formuladas con harina de ahípa y de mandioca (**Tabla 4**). Estos resultados podrían atribuirse a los productos de reacción de Maillard, los cuales se ven favorecidos por las altas temperaturas (en el horneado) y durante el almacenamiento prolongado, pronunciando su color tostado típico a lo largo del tiempo.

Como se mencionó previamente, la textura de las galletitas envasadas y almacenadas fue analizada mediante los parámetros fuerza máxima y área bajo la curva obtenidos en los ensayos de compresión durante los tiempos de almacenamiento muestreados. El área bajo la curva, representativa del trabajo realizado en la compresión, aumentó inicialmente y luego disminuyó a lo largo del almacenamiento para las formulaciones 25HA y 25HM, mostrando un comportamiento similar al de la fuerza máxima en cada muestra. Estos resultados coinciden además con el leve aumento de la actividad acuosa de los productos estudiados; pudiendo correlacionarse con el incremento de la humedad de las mismas, la disminución de la firmeza, y por ende con el menor trabajo necesario para su ruptura. Además esto se podría correlacionar inversamente con el aumento de peso de los productos horneados almacenados.

CONCLUSIONES

Se pudo demostrar que es posible obtener galletitas formuladas a partir de almidón de maíz parcialmente sustituidas con harina de ahípa o mandioca.

La masa elaborada con harina de mandioca fue la que presentó los valores mayores de los parámetros texturales firmeza, gomosidad, masticabilidad y consistencia. Se observó que la actividad acuosa y el contenido de humedad fueron inferiores en las masas preparadas con harina de ahípa.

El valor del ángulo hue de la masa control indicó la tonalidad amarilla de las muestras, mientras que las masas con harina de ahípa y mandioca mostraron tonalidades más pardas.

Las galletitas formuladas con almidón de maíz parcialmente sustituido con harina de ahípa y de mandioca mostraron valores altos de los parámetros texturales respecto de la galletita control y sin diferencias significativas entre las mismas ($p > 0,05$).

Las galletitas elaboradas con harina de ahípa presentaron las mayores diferencias de color respecto al control, debido posiblemente a los productos de pardeamiento originados en la reacción de Maillard. La actividad acuosa de estas galletitas fue la más baja respecto a los otros productos horneados estudiados. Además estos productos se caracterizaron por poseer un mayor aporte de fibra dietaria total y de proteína que las galletitas elaboradas exclusivamente a base de almidón de maíz.

Los ensayos sensoriales indicaron que las galletitas formuladas con ambas harinas tuvieron buena aceptabilidad por parte de los consumidores, incluso mayor que las formuladas sólo con almidón de maíz.

A través del estudio de las isotermas de sorción, satisfactoriamente ajustadas por el modelo de GAB, se puede inferir que estos productos resultan estables ya que presentaron valores del contenido de agua de la monocapa inferiores a 0,1 g/g, límite máximo de estabilidad propuesto para alimentos secos.

Durante el almacenamiento, la actividad acuosa de los productos estudiados mostró un ligero incremento independientemente de la formulación de la galletita. Las variaciones en el peso de las muestras (menores al 7%) se atribuyen a la permeabilidad al vapor de agua del envase seleccionado. Las diferencias de color observadas se deben principalmente a los cambios en la luminosidad de las muestras. Los parámetros de textura analizados tanto para las galletitas formuladas con harina de ahípa como con harina de mandioca mostraron un aumento inicial, para luego disminuir durante el almacenamiento.

Se concluye que la harina de ahípa, tal como ocurre con la de mandioca, podría sustituir parcialmente al almidón de maíz en futuras formulaciones para la elaboración de productos libres de gluten, ya que contribuiría a obtener productos nutricionalmente balanceados y con buena aceptación de los consumidores.

BIBLIOGRAFÍA

Andrés SC, García ME, Zaritzky, NE, Califano AN. 2006. Storage stability of low-fat chicken sausages. *Journal of Food Engineering*, 72: 311-319.

AOAC. 1990. Official methods of analysis (15th ed.). Arlington, Virginia, USA: Association of Official Analytical Chemists (AOAC), Inc.

Bertuzzi MA., Armada M, Gottifredi JC, Aparicio AR, Jimenez P. 2002. Estudios de la permeabilidad al vapor de agua de films comestibles para recubrir alimentos. Congreso Regional de Ciencia y Tecnología NOA. Secretaría de Ciencia y Técnica. Universidad Nacional de Catamarca.

Bourne MC. 1978. Texture profile analysis. Food Technology, 32 (7) 62:66,72.

Cladera-Olivera F., Ferreira Marczak LDF, Zapata Noreña CP, Pettermann AC. 2009. Modeling water adsorption isotherms of pinhao (*Araucaria angustifolia* seeds) flour and thermodynamic analysis of the adsorption process. Journal of Food Process Engineering 34 (3): 826-843.

Dini C, Doporto MC, García MA, Viña SZ. 2013. Nutritional profile and anti-nutrient analyses of *Pachyrhizus ahipa* roots from different accessions. Food Research International (54): 255-261.

Doporto MC, Mugridge A, García MA, Viña SZ. 2011. *Pachyrhizus ahipa* (wedd.) Parodi roots and flours: Biochemical and functional characteristics. Food Chemistry, 126: 1670-1678.

Doporto MC, Dini C, Mugridge A, Viña SZ, García MA. 2012. Physicochemical, thermal and sorption properties of nutritionally differentiated flours and starches. Journal of Food Engineering, 113 (4), 569-576.

Gallagher E. 2002. The application of functional ingredients in short dough biscuits. MSc Thesis. Cork, Ireland: Department of Food Technology, University College Cork.

Labuza TP. 1984. Moisture Sorption: Practical Aspects of Isotherm Measurement and Use. American Association of Cereal Chemists, American, St. Paul, MN.

Olivera DF, Salvadori VO. 2012. Kinetic modeling of quality changes of chilled ready to serve lasagna. Journal of Food Engineering, 110: 487-492.

Roopa BS, Bhattacharya S. 2008. Alginate gels: I. Characterization of textural attributes. Journal of Food Engineering, 85 (1): 123-131.

Spiess WEL, Wolf W. 1983. The result of the COST 90 project on water activity. En Physical Properties of Foods, eds R. Jowitt, F. Escher, B. Hallstrom, H. F. Th. Meffert, W.E.L. Spiess & G. Vos. Applied Science Publishers, London, pag. 65-88.

Thys RCS, Noreña CPZ, Marczak LDF, Gomes Aires A, Cladera-Olivera F. 2010. Adsorption isotherms of pinhão (*Araucaria angustifolia* seeds) starch and thermodynamic analysis. Journal of Food Engineering, 100: 468-473.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue realizado en el marco del Proyecto PICT 2011-1213, de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT), Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva. Los autores agradecen a los Ingenieros Fassola H., Rohatsch, P. y Feltan, R., de la EEA INTA Montecarlo (Misiones), por la provisión de las raíces de ahipa y mandioca.

PROPIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS Y ANTIOXIDANTES DE LOS FRUTOS DE *EUGENIA UNIFLORA* (PITANGA) DURANTE SU MADURACIÓN

Dos Santos L.R., Argüello B.delV., Scipioni G.P.

Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones.
varguello@gmail.com

Resumen: El objetivo de este trabajo fue estudiar los cambios en tamaño, color, contenido de pigmentos, fenoles totales, actividad antioxidante, acidez y cenizas en la pulpa del fruto de pitanga durante la maduración. Los frutos se cosecharon de árboles de Pitanga (*Eugenia uniflora* típica) de la ciudad de Posadas, Misiones, Argentina, en los distintos estados de maduración, durante su producción en verano. Luego se los clasificó por colores: verdes, amarillos, naranja, rojo y rojo oscuro. La relación de los diámetros longitudinales y transversales aumentó durante la maduración. Los parámetros de color variaron: a* desde -18,5 hasta 28; b* desde 54 hasta 17 y L* desde 54 hasta 22. El contenido de humedad de las pulpas disminuyó de 89% a 79%; las cenizas oscilaron entre 0,69% y 0,60%. Disminuyeron los fenoles totales, desde 8,07g hasta 2,05g equivalentes de ácido gálico en 100 g de muestra seca, la actividad antioxidante desde 18,94% hasta 2,16% y la acidez total titulable desde 6,08g hasta 1,89 g de ácido cítrico por 100 g de muestra seca. Los carotenos aumentaron desde 0,03 hasta 0,08 g expresados en g de licopeno por 100 g de muestra seca. No se detectó la presencia de antocianos.

Palabras Clave: frutos; maduración; *Eugenia uniflora*, capacidad antioxidante

Abstract: The aim of this work was to study the changes in size, color, content of pigments, total phenol, antioxidant activity, total acidity and ashes in the pulp of the fruit during maturation. Pitanga fruit samples were taken from trees of *Eugenia uniflora* typical, in the city of Posadas, Misiones, Argentina in summer, at different stages of maturity. The fruits were classified by colors: green, yellow, orange, red and dark red. The ratio of the longitudinal and transverse diameters increased during ripening. The color parameters b* and L* decreased from 54 to 17 and from 54 to 22 respectively, but a* increased from -18, 5 to 28. The moisture content of the pulp decreased from 89% to 79% and ash content ranged between 0.69% and 0.60%. During maturation there was a decrease in the total phenols from 8.07 to 2.05 equivalents of gallic acid in 100 g of dry sample, in the antioxidant activity from 18.94% to 2.16% and the titratable acidity from 6.08 to 1.89 g citric acid per 100 g of the dry sample. Carotenoids increased with fruit ripening from 0.03 to 0.08 g expressed in g of lycopene per 100 g of the dry sample. Anthocyanins were not detected.

Keywords: fruits; maturation; *Eugenia uniflora*; antioxidant capacity

INTRODUCCIÓN

El aumento en el consumo de frutas y verduras, tanto naturales como procesadas, está asociado al conocimiento de sustancias bioactivas presentes en las mismas, que las convierten en alimentos funcionales. Aún en pequeñas concentraciones, los metabolitos secundarios como los polifenoles y los carotenoides pueden desempeñar acciones fisiológicas beneficiosas para la salud al actuar como antioxidantes (Wang *et al.* 1996, Rice-Evans *et al.* 1996, Rocha *et al.* 2011). Los antioxidantes son sustancias que pueden inhibir la iniciación o propagación de reacciones de oxidación en cadena. Las especies reactivas de oxígeno, en condiciones de estrés oxidativo, pueden provocar daños en los lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, lo que está correlacionado con enfermedades degenerativas y cardiovasculares y con el envejecimiento. Los polifenoles además contribuyen con actividad antialérgica, antimicrobiana, antihemorrágica (Bagetti *et al.* 2011). Entre los polifenoles se encuentran los flavonoides, los ácidos fenólicos y las antocianinas (que dan coloración desde el azul al rojo). Los carotenoides son los pigmentos más distribuidos en la naturaleza, siendo los más importantes β -caroteno (por ser precursor de vitamina A), licopeno, luteína y zeaxantina (Filho *et al.* 2008). Son responsables de colores anaranjados y rojos. El licopeno, se ha demostrado que es el carotenoide más eficiente para atrapar al oxígeno singlete (di Mascio *et al.* 1989).

Los frutos rojos son muy apreciados por su importante contenido en polifenoles y carotenoides. La pitanga (*Eugenia uniflora*) es un árbol ampliamente distribuido en Sudamérica. Sus frutos son

muy utilizados por la industria alimentaria brasilera en jugos o pulpas congeladas, con una demanda elevada por parte de los consumidores (Lima *et al.* 2002). Sin embargo, los polifenoles y los carotenoides tienen una composición variable dependiendo del origen geográfico de los frutos (Bagetti *et al.* 2011).

La información sobre la variación de estos fitoquímicos en frutos obtenidos de plantas cultivadas en Argentina es escasa. El objetivo de este trabajo fue estudiar los cambios en tamaño, color, contenido de pigmentos, fenoles totales, acidez, actividad antioxidante y cenizas en la pulpa del fruto de pitanga durante la maduración.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los frutos se cosecharon de árboles de Pitanga (*Eugenia uniflora* típica) de la ciudad de Posadas, Misiones, en los distintos estados de maduración, durante su producción en verano. Se recolectaron aproximadamente 500 g de frutos de cada estado madurativo. Luego de la cosecha se clasificaron los frutos por colores: verde, amarillo, naranja, rojo y rojo oscuro; se quitaron los ovarios persistentes y se lavaron con agua destilada. Se seleccionaron al azar frutos de cada color y se procedió a su caracterización física, midiendo los diámetros longitudinal (DL) y transversal (DT) y los parámetros de color. Luego se acondicionaron en recipientes de plástico, opacos y de cierre hermético, y se conservaron a una temperatura de -18 °C hasta la realización de los ensayos químicos en las pulpas. Para la preparación de las pulpas, las muestras congeladas se mantuvieron a una temperatura de 4°C durante 12 horas para reducir la pérdida de agua. A continuación se separaron las semillas en forma manual y las pulpas con piel

se trituraron en mortero. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado y los resultados fueron analizados a través de análisis de varianza y test de múltiples rangos con el programa Statgraphics Plus (v.5.1).

Determinación de los diámetros longitudinal (DL) y transversal (DT)

Las mediciones se realizaron mediante un calibre. A partir de los valores de los diámetros se calculó la relación diámetro transversal /diámetro longitudinal (DT/DL) para cada grupo de frutos.

Determinación de los parámetros de color

Los parámetros de color L^* , a^* y b^* de los frutos enteros de *Eugenia Uniflora* se determinaron con un medidor de color (Hunter Associates Laboratory, Reston, Virginia, EE.UU), sobre una porción de frutos distribuida en una caja de Petri de 5,5 cm de diámetro y 0,5 cm de profundidad. Las determinaciones se realizaron por triplicado, con tres lecturas por determinación rotando la caja un ángulo de 120° por vez.

Determinación del contenido de humedad

La determinación del contenido de humedad se realizó sobre 10 g de muestra, en estufa a una temperatura 65°C durante 48 horas. El contenido de humedad de las pulpas de pitanga se calculó por diferencia de masas entre la pulpa fresca y la pulpa seca. Los resultados se expresan en g de agua por 100 g de pulpa deshidratada.

Determinación del contenido de cenizas

Las cenizas se determinaron, sobre las muestra secas provenientes del análisis del contenido de humedad, en mufla a una temperatura de 550 °C durante 5 h hasta la obtención de cenizas blancas. Los resultados se expresan en g/100g de pulpa deshidratada.

Determinación del contenido de fenoles totales

Porciones de 2 g de pulpa se pesaron en frascos de vidrio color caramelo, se agregaron 10 mL de metanol (Anedra, Arg.): agua (70:30) y se colocaron en baño de ultrasonido durante 15 minutos. A continuación se separó el material sólido por filtración. Este procedimiento se repitió cinco veces hasta que las pulpas quedaron blancas. El extracto total se llevó a volumen con agua destilada en un matraz de 50 mL.

La concentración de fenoles totales se determinó por espectrofotometría, basándose en la reacción colorimétrica de oxido-reducción con el reactivo de Folin-Ciocalteu (Anedra, Arg.) (Singleton y Rossi 1965). La curva de calibración se obtuvo a partir de soluciones patrones de ácido gálico de concentraciones 20 a 100 µg/mL. En recipientes protegidos de la luz se colocaron 5 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu y 1 mL de cada una de las soluciones patrón, se dejó reaccionar 5 minutos y se adicionaron 4 mL de Na_2CO_3 al 7,5%, incubándose a temperatura ambiente durante 40 minutos. Para la preparación de la solución blanco, se reemplazó el volumen de solución patrón por agua destilada. Se midió la absorbancia a una longitud de onda de 750 nm con un espectrofotómetro marca Shimadzu, modelo UV 2550. De manera similar se procedió a determinar los Fenoles Totales en

los extractos obtenidos de las pulpas trituradas. Los resultados se expresan en g de ácido gálico por 100 g de materia seca.

Determinación de la capacidad antioxidante

Se utilizó el método de reducción del DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) (Sigma). La capacidad antiradical de los extractos se evaluó por la disminución de la absorbancia, medida a 517 nm, del radical libre DPP• (Brand-Williams *et al.* 1995). Se vertieron 3,9 mL de la solución metanólica de DPPH (25 mg/100mL) en recipientes protegidos de la luz y 0,1 mL cada uno de los extractos. Se incubó cada vial durante 30 minutos y se midió la absorbancia en espectrofotómetro Shimadzu, modelo UV 2550. El blanco de reactivo se obtuvo reemplazando el volumen de extracto por agua destilada. Los valores de absorbancia fueron utilizados para determinar el porcentaje de actividad antioxidante (%AA) mediante la ecuación siguiente (1).

$$\% AA = [(A_1 - A_2) / A_1] \times 100_{(1)}$$

Donde A_1 es la absorbancia del blanco y A_2 es la absorbancia de la muestra (Barrón-Yáñez *et al.* 2011).

Determinación del contenido de antocianinas totales

Se utilizó el método de pH diferencial basado en las transformaciones reversibles que sufren las antocianinas con los cambios de pH, manifestados por un cambio en la absorbancia (Fuleki y Francis 1968).

Se pesaron aproximadamente 3 g de pulpa en frascos de vidrio caramelo, se agregaron 10 mL de una solución de etanol de 96° conteniendo 1% de HCl 1N y se llevaron a baño de ultrasonido durante 30 minutos. Se filtró y se repitió el procedimiento hasta

la decoloración de la pulpa. Un volumen de 0,5 mL del extracto obtenido se diluyó en buffers de pH 1 y pH 4,5 obtenidos mezclando soluciones de KCl 0,2M - HCl 0,2M y acetato de sodio 1M - HCl 0,1M - agua respectivamente. A continuación se determinaron las absorbancias a 520 nm y 700nm en espectrofotómetro Shimadzu UV modelo 2550.

Determinación del contenido de carotenos totales

La elección del solvente de extracción se realizó mediante ensayos preliminares. Los solventes ensayados fueron: metanol/agua (70/30), etanol (96%) y acetona, eligiéndose este último por la intensa coloración naranja obtenida. Se pesaron aproximadamente 2 g de pulpa en frascos de vidrio color caramelo, se adicionaron 10 mL de solvente, se llevaron a baño de ultrasonido durante 5 minutos y se filtraron los extractos obtenidos. Esta operación se repitió hasta que las pulpas no presentaron color. Los extractos obtenidos se llevaron a un volumen final de 100 mL. La determinación cuantitativa de carotenoides se realizó por espectrofotometría ultravioleta/visible a una longitud de onda de 450 nm. El espectro del extracto mostró los picos característicos del licopeno, siendo este el caroteno informado como responsable del color de los frutos de la pitanga (Bagetti y col. 2011). Por medio de la Ley de Lambert- Beer se calculó la concentración de carotenos totales en g de licopeno/100g de pulpa seca, utilizando la absortividad molar ($172000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) y la masa molar (536,89 g/mol) del licopeno.

Determinación del contenido de ácidos totales

Se realizó mediante una valoración ácido-base. Una alícuota del extracto utilizado en la cuantificación de fenoles totales se tituló con NaOH 0,1N hasta pH 8,1. Los cambios de pH se midieron mediante electrodo combinado. Los resultados se expresan en g de ácido cítrico/100g de pulpa deshidratada.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las características físicas de relación de diámetros y parámetros de color presentaron diferencias significativas durante la maduración ($p < 0,05$) (**Tabla 1**). La similitud entre los valores DT/DL de los frutos amarillos y verdes podría deberse a que los frutos se encuentran en la etapa de expansión celular. En los frutos de color rojo oscuro el valor obtenido fue similar al de frutos verdes y amarillos, constituyendo un grupo homogéneo. Esto podría deberse a la pérdida de firmeza del fruto que ocurre durante la última etapa de maduración (Martínez-Cruz, *et al.* 2011, Ferreira Dos Santos, *et al.* 2002). El test de múltiples rangos permitió establecer similitud en la relación de diámetros entre los frutos naranjas y rojos, conformando un segundo grupo homogéneo. Los valores medios de los diámetros transversales y longitudinales, encontrados en este trabajo, fueron aproximadamente 17% y 32% menores a los hallados por Ferreira Dos Santos *et al.* (2002) en frutos cosechados en la ciudad de Paraíba en Brasil.

Los valores medios de la coordenada de color a^* se incrementaron gradualmente desde los frutos verdes (-18,5) hasta los frutos rojos (+28) como consecuencia de la destrucción

de la clorofila y la síntesis de nuevos pigmentos, mostrando una ligera disminución para los frutos de color rojo oscuro (**Tabla 1**). Las coordenadas de color b^* y L^* , presentaron un perfil semejante entre ellas. Los valores de b^* en los frutos verdes fueron inferiores a los de los frutos amarillos (estos presentaron el valor máximo). La coordenada L^* presentó, en los frutos verdes, valores inferiores al máximo obtenido en los amarillos. En los estadios de maduración posteriores, las coordenadas b^* y L^* mostraron un descenso gradual indicando un aumento en el contenido de pigmentos rojos al alcanzar la maduración óptima. El cambio observado en b^* fue desde 54 hasta 17 y en L^* desde 54 hasta 22.

Tabla 1: Parámetros físicos de los frutos de pitanga durante la maduración

Muestra	DT/DL	Parámetros de color		
		L^*	a^*	b^*
Verde	1,21 ± 0,10 ^a	35,8 ± 0,4 ^a	-18,5 ± 0,1 ^a	34,4 ± 0,6 ^a
Amarillo	1,18 ± 0,12 ^b	54,0 ± 0,9 ^b	7,2 ± 0,4 ^b	53,9 ± 0,7 ^b
Naranja	1,34 ± 0,07 ^c	36,6 ± 0,3 ^a	31,9 ± 0,4 ^c	35,7 ± 0,5 ^c
Rojo	1,38 ± 0,10 ^c	28,6 ± 0,6 ^c	30,8 ± 0,5 ^c	24,2 ± 0,9 ^d
Rojo oscuro	1,19 ± 0,10 ^b	22,3 ± 0,9 ^d	28,0 ± 0,6 ^d	16,9 ± 0,6 ^e

Valores promedio ± Desviación Standard. a, b, c, d y e indican diferencias estadísticamente significativas.

El contenido de humedad en las pulpas de los frutos verdes ($88,94 \pm 0,02$), amarillos ($89,06 \pm 0,05$) y naranjas ($89,63 \pm 0,25$) permaneció prácticamente constante, presentando diferencias significativas entre los frutos naranjas, rojos ($86,21 \pm 0,40$) y rojos oscuros ($79,55 \pm 0,77$). Bagetti *et al.* (2011) hallaron valores

similares; sin embargo en un informe de la Universidad de Campinas-Unicamp (2006) se reportaron porcentajes de humedad para el fruto maduro del 88%.

El contenido de cenizas totales no presentó diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los frutos en los distintos estadios de maduración con un valor medio de 0,66 g/100g y un ligero descenso hacia el final de la maduración. Bagetti *et al.* (2011) informaron porcentajes de cenizas en frutos maduros entre 1,1% y 2,4 % mientras que en el informe de la Universidad de Campinas los valores reportados son del 0,4%.

En la **Tabla 2** se observan los resultados en la caracterización química. El contenido de fenoles totales no presentó diferencias estadísticamente significativas entre las pulpas de los frutos verdes y amarillos de *Eugenia uniflora*. Sin embargo, a medida que progresó la maduración, se observó un descenso en el contenido de los fenoles totales en las pulpas naranjas, rojas y rojas oscuras con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Bonat Celli y Pereira Netto (2011) hallaron una variación en el contenido de los fenoles totales similar a la obtenida en este trabajo, en el que el mayor valor fue para las pulpas verdes. Por el contrario, Lima *et al.* (2002) obtuvieron incrementos en las concentraciones de fenoles a medida que maduraron los frutos de pitangas, coincidiendo con Nascimento *et al.* (1990) para cuatro cultivares de ciruelas rojas y con Dekazos (1970) para cerezas ácidas. Los compuestos fenólicos influyen en la calidad de los frutos con propiedades sensoriales de astringencia, atractivas para los consumidores. Las diferencias observadas en el contenido de fenoles totales podrían atribuirse a una adaptación de las plantas a las condiciones climáticas de Misiones.

Al aplicar el test de rangos múltiples no se observaron diferencias significativas entre los porcentajes de la actividad antioxidante de las pulpas de los frutos verdes y amarillos; naranjas y rojos; rojos y rojo oscuros, constituyendo tres grupos bien diferenciados (**Tabla 2**). Bonat Celli y Pereira Netto (2011) determinaron la capacidad antioxidante de las pulpas de pitanga en las distintas etapas de maduración hallando valores similares.

Tabla 2: Parámetros químicos durante la maduración de los frutos de pitanga

Muestra	Fenoles Totales	% Actividad Antioxidante	Acidez Total Titulable	Carotenos Totales
Verde	8,07 ± 0,14 ^a	18,94 ± 1,70 ^a	5,47 ± 0,04 ^a	0,03 ± 0,003 ^a
Amarillo	7,78 ± 0,41 ^a	17,35 ± 0,27 ^a	6,08 ± 0,22 ^b	0,02 ± 0,001 ^a
Naranja	4,60 ± 0,06 ^b	4,86 ± 0,41 ^b	5,26 ± 0,08 ^a	0,05 ± 0,002 ^b
Rojo	2,98 ± 0,06 ^c	3,67 ± 0,56 ^{b,c}	3,28 ± 0,10 ^c	0,05 ± 0,002 ^c
Rojo oscuro	2,05 ± 0,03 ^d	2,16 ± 0,38 ^c	1,89 ± 0,01 ^d	0,08 ± 0,008 ^c

Valores promedio ± Desviación Standard. a, b, c y d indican diferencias significativas.

En la determinación de antocianinas totales, al aplicar el método de diferencia de pH, no se observó aparición del color característico del catión flavilio, indicando ausencia de antocianinas en las pulpas de los frutos de pitangas. Esto podría deberse a que estos pigmentos están presentes en bajas cantidades en la fruta fresca y aunque son resistentes al congelamiento, son sensibles a la exposición de la luz (Lima *et al.* 2005) y a la acción de sustancias como el peróxido de hidrógeno

(originado en la elaboración de jugos de frutas), por lo que la destrucción durante el procesamiento de las pulpas condujo a concentraciones que no permitieron su cuantificación. El principal problema que presentan las antocianinas es su baja estabilidad, relacionada con el grado de glicosilación y la cantidad de metoxilos presentes en su estructura, a mayor glicosilación y mayor cantidad de hidroxilos metoxilados mayor es su estabilidad (Francis 1989). Además, los fenoles presentes actuarían como copigmentos aumentando la estabilidad del color (Davis y Mazza 1993). Según nuestros resultados, la disminución en el contenido de fenoles podría haber influenciado en su no detección. Lima *et al* (2002), demostraron que los antocianos se hallan concentrados casi exclusivamente en la piel, tal como ocurre con las cerezas ácidas maduras (Dekazos 1970), las uvas, las ciruelas rojas y a diferencia de las moras o frutillas (Gross 1987) en las que se distribuyen en todo el fruto.

La **Tabla 2** también muestra los valores medios del contenido de ácidos totales expresados en g de ácido cítrico por 100 g de muestra seca. El máximo de acidez se observó en las pulpas de los frutos amarillos de *Eugenia uniflora*. Como era de esperarse, la acidez de las pulpas disminuyó significativamente ($p < 0,05$) a medida que el fruto maduró. Sin embargo, Ferreira Dos Santos *et al* (2002), encontraron que la acidez aumentó con la maduración de los frutos en dos variedades de *Eugenia uniflora*.

La cantidad de carotenos, expresados como licopeno, aumentó significativamente durante la maduración del fruto ($p < 0,05$). El test de múltiples rangos permitió establecer tres grupos homogéneos: frutos verdes y amarillos; naranjas; rojos y rojos oscuros. Estos resultados son similares a los encontrados por Lima *et al* (2002) y los valores son superiores a los hallados para

muestras de pitangas de San Pablo y de Paraná (Porcu y Rodríguez Amaya 2008). Según Filho *et al* (2008) los carotenoides que más contribuyen a la cantidad total de carotenos en pitanga son el licopeno, la rubixantina y la criptoxantina.

CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos se puede concluir que la coloración de los frutos se debe principalmente al contenido de carotenoides, en especial Licopeno; dado que los antocianos no fueron detectados. La disminución de la actividad antioxidante se produce junto con un descenso en la concentración de los fenoles a medida que la fruta madura.

Las diferencias en los resultados obtenidos en este trabajo con relación a otras investigaciones, podría deberse a que los frutos analizados corresponden a plantas con características edafológicas y climáticas diferentes a las de zonas más tropicales donde esta especie ha sido estudiada.

BIBLIOGRAFÍA

- Bagetti M, Facco EMP, Piccolo J, Hirsch GE, Rodriguez-Amaya D, Kobori CN, Vizzotto M, Emanuelli T. 2011. Physicochemical characterization and antioxidant capacity of pitanga fruits (*Eugenia uniflora*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 31:147-154.
- Barrón-Yanez R, García-Mateos M, Soto-Hernandez M, Colinas-Leon T, Kite G. 2011. Flavonoides y capacidad antioxidante de *Calia secundiflora* (Ort.) Yakovlev. *Revista de Fitotecnología Mexicana* 34:151-157.
- Bonat-Celli G, Pereira-Netto AB. 2011. Comparative analysis of total phenolic content, antioxidant activity, and flavonoids, profile of fruits from two varieties of Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L) throughout the fruit developmental stages. *Food Research International* 44:2409-2544.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 28:25-30.
- Davis AJ, Mazza G. 1993. Copigmentation of simple and acylated anthocyanins with colorless phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem*, 41:716-720.
- Dekazos ED. 1970. Quantitative determination of anthocyanin pigments during the maturation and ripening of red tart cherries. *Journal of Food Science*, 35:242-244.
- Di Mascio P, Kaiser S, Sies H. 1989. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 274:532-538.

Ferreira Dos Santos A, Silva de Melo S, Nunes Mendonça RM, Santos Da Silva M, Alves RE, Almeida CF H. 2002. Alterações Fisiológicas Durante a Maturação de Pitanga (*Eugenia uniflora* L.). Proceedings of the interamerican society for tropical horticulture, 46: 52-54.

Filho GL, De Rosso VV, Meireles MAA, Rosa PTV, Oliveira AL, Mercadante AZ, et al. 2008. Supercritical CO₂ extraction of carotenoids from pitanga fruits (*Eugenia uniflora* L) The Journal of Supercritical Fluids, 46:33-39.

Francis FJ. 1989. Food colorants: anthocyanins. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 28:273-314

Fuleki T, Francis FJ. 1968. Quantitative methods for anthocyanins. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. J. Food Sci. 33:72-78.

Gross J. 1987. Pigments in fruits. London: Academic Press, 303ps.

Lima VLAG, Mélo EA, Lima DES 2005. Efeito da luz e da temperatura de congelamento sobre a estabilidade das antocianinas da pitanga roxa. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 25:92-94.

Lima VLAG, Mélo EA, Lima DES. 2002. Fenólicos e carotenóides totais em pitanga. Scientia Agricola, 59:447-450.

Martínez-Cruz N, Arévalo-Niño K, Verde-Star M, Rivas-Morales C, Oranday-Cárdenas A, Núñez-González A, Morales-Rubio E. 2011. Antocianinas y actividad anti radicales libres de *Rubus adenotrichus* Schltld (zarzamora). Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, 42:66-71.

Nascimento LM do, Chitarra AB, Chitarra MIF. 1990. Fisiologia pós colheita de frutos de quatro cultivares de ameixeira (*Prunus* sp.) armazenados em diferentes condições. Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos, 20:155-171.

Porcu O, Rodríguez-Amaya DB. 2008. Variation in the carotenoid composition of the lycopene-rich Brazilian fruit *Eugenia uniflora* L. Plant Foods for Human Nutrition, 63:195-199.

Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Radical Biology and Medicine, 20:933-956.

Rocha WS, Lopes RM, Da Silva DB, Vieira RF, Da Silva JP, Agostini-Costa TS. 2011. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do Cerrado. Revista Bras. Frutic., Jaboticabal-SP, 33: 1215-1221.

Singleton VL y Rossi Jr. JA. 1965. Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16:144-158.

Universidade de Campinas-Unicamp. 2006. Tabela brasileira de composição de alimentos. TACO. 2ed. Versión II. Campinas: NEPA/UNICAMP, p 113.

Wang H, Cao G, Prior RL. 1996. Total antioxidant capacity of fruits. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 44:701-705.

GELIFICACIÓN DEL CASEINOMACROPÉPTIDO EN PRESENCIA DE CLORURO DE CALCIO

Farías M.E.^{1,2} y Pilosof A.M.R²

1: Departamento de Tecnología, Universidad Nacional de Luján, Rutas 5 y 7, Luján, Buenos Aires, Argentina.

2: Departamento de Industrias, FCEN-Universidad de Buenos Aires, Ciudad Universitaria, CABA, Argentina.

efarias@mail.unlu.edu.ar

Resumen: El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la presencia de cloruro de calcio en la gelificación del caseinomacropéptido (CMP) en condiciones ácidas (pH 2,0 a 3,5) y la reversibilidad de los geles con los cambios de pH. La dinámica de gelificación y las propiedades viscoelásticas se registraron en un reómetro de estrés controlado. Los geles se diluyeron (1:5) en agua y el pH se ajustó a 7,0 para analizar la reversibilidad. El tamaño de partícula se analizó mediante Dispersión Dinámica de Luz. Los geles de CMP formados por calentamiento en condiciones ácidas (pH < 4,5) con 0,2 M de CaCl₂ mostraron un comportamiento reológico similar a aquellos formados en ausencia de cloruro de calcio. Los barridos de frecuencia mostraron la formación de geles verdaderos ($G' > G''$). Los geles obtenidos en presencia de CaCl₂ revirtieron ante el cambio de pH (7,0) evidenciando que la forma tetramérica fue la resistente a los ulteriores cambios de pH.

Palabras clave: caseinomacropéptido, cloruro de calcio, gelificación, reversibilidad

Abstract: The aim of this work was to study the effect of the presence of calcium chloride on the gelation of caseinmacropeptide (CMP) at acidic conditions (pH 2.0 to 3.5) and the reversibility of the gels at pH changes. Gelling and dynamic viscoelastic properties were recorded on a controlled stress rheometer. Gels were diluted (1: 5) in water and the pH was adjusted to 7.0 to analyze the reversibility. The particle size was analyzed by Dynamic Light Scattering. CMP gels formed upon heating at acidic conditions (pH < 4.5) and 0.2 M CaCl₂ showed similar rheological behavior to those formed in absence of calcium chloride. Frequency sweeps showed the formation of true gels ($G' > G''$). The gels obtained in presence of CaCl₂ were reversible to pH change (7.0) suggesting that the tetrameric form was resistant to subsequent pH changes.

Keywords: caseinmacropeptide, calcium chloride, gelation, reversibility

INTRODUCCIÓN

El caseinomacropéptido (CMP) es un péptido bioactivo de 64 aminoácidos obtenido por la ruptura enzimática específica de la α -caseína, por parte de la pepsina o quimosina, durante la elaboración del queso. El CMP que es altamente soluble en agua, difunde rápidamente en el suero, mientras que el resto de la molécula, la para- κ -caseína, forma parte del coágulo. El CMP presenta un gran interés por sus propiedades bioactivas y tecnológicas (Thöma-Worringer et al., 2006).

Originalmente, el estudio del CMP se enfocó en su detección, en especial para reconocer la falsificación de leche por el agregado de suero de queso (Thomä y Kulozik, 2004) o como seguimiento del proceso enzimático de la coagulación del queso (Coolbear et al., 1996). En la actualidad, las investigaciones se centran principalmente en sus propiedades bioactivas y en menor lugar en sus propiedades funcionales (Kreuz et al., 2009). En un medio de muy baja fuerza iónica se ha mostrado que el CMP a pH < 4,5 se autoensambla en el tiempo y gelifica espontáneamente a temperatura ambiente (Farías et al., 2010). Con respecto a sus propiedades de gelificación, se han estudiado en diferentes condiciones de pH (Farías et al., 2010), temperatura (Martínez et al., 2011), concentración (Farías y Pilosof, 2009), presencia de β -lactoglobulina (Martínez et al., 2010) y polifenoles de té verde (von Staszewski et al., 2012). También se ha estudiado su autoensamblaje en presencia de sales (NaCl y CaCl₂) (Farías y Pilosof, 2014). Elevadas concentraciones de cloruro de calcio (superior a 1,2 milimoles de CaCl₂/g de CMP) producen una disminución de la velocidad de autoensamblaje del CMP o

incluso pueden suprimirla, posiblemente por supresión de las cargas necesarias para que ocurran interacciones electrostáticas (Farías et al., 2014). El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la presencia de alta concentración de cloruro de calcio en la gelificación del CMP en condiciones ácidas (pH 2,0 a 3,5) y la reversibilidad de los geles a los cambios de pH.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Se utilizó caseinomacropéptido, CMP, de BioPURE-GMP® de Davisco Foods International, Inc. (USA). Su pureza, según el proveedor, fue (en base seca): 90,0 \pm 3,0% (p/p) de CMP (N x 7,07). Los minerales fueron determinados mediante espectrofotometría de absorción atómica con previa calcinación en mufla a 500 °C. La composición de minerales fue la siguiente (mg/100 g de muestra): 950% Na; 125% K y 540% Ca. El contenido de ácido siálico fue 7% (p/p) (Fernando y Woonton, 2010).

La muestra de CMP se disolvió en agua Milli-Q. Las soluciones se almacenaron en la heladera al menos 24 h antes de su uso. El pH se ajustó entre 2,0 y 3,5 con HCl de alta normalidad (1N) para evitar dilución. Las soluciones se preservaron con 0,02% p/p de azida sódica.

Dinámica de gelificación y propiedades viscoelásticas de los geles

La dinámica de gelificación de las soluciones de CMP 10% (p/p) en ausencia o presencia de CaCl₂ (0,2 M) se registró en un

reómetro de esfuerzo de corte controlado Paar Physica (MCR 300) con sistema de platos paralelos con un gap de 1 mm (Graz, Austria). Se vertieron 700 μ l de solución de CMP en el plato del reómetro inmediatamente después de ajustar el pH. La temperatura fue controlada por un sistema Peltier (Viscotherm VT2, Paar Physica). Se aplicó en la superficie expuesta parafina para evitar la evaporación de las muestras. La frecuencia fue de 1 Hz y la deformación 0,01%, condiciones correspondientes a la región de viscoelasticidad lineal. Se registró la evolución de G' , G'' y la tangente del ángulo de pérdida, $\tan \delta$. Las muestras fueron rápidamente calentadas desde 25°C hasta alcanzar la temperatura de los ensayos (70 °C) en un minuto y se mantuvo durante 30 minutos, tiempo suficiente para permitir que G' alcance el equilibrio. Luego se enfrió el sistema a 25 °C en 10 min. Las propiedades viscoelásticas del gel formado se midieron en función de la frecuencia de oscilación entre 0,05 y 10 Hz a 25 °C con la misma deformación, 0,01%. El grado de dependencia de G' con la frecuencia puede ser expresado por medio de la constante n según la siguiente ecuación (Stading y Hermansson, 1990):

$$\log G' = n \cdot \log f + K \quad (1)$$

donde, G' es el modulo elástico, f la frecuencia de oscilación y K una constante.

La dependencia del módulo elástico con la frecuencia da información sobre el tipo de estructura que presenta el gel (Stading et al., 1990). Los datos informados son la media de triplicados.

Formación de geles y dilución para el ensayo de reversibilidad

La obtención de geles para los ensayos de reversibilidad se llevó a cabo mediante calentamiento en un baño seco (Thermolyne Dry Bath, U.S.A.) a temperatura constante (70 °C) a pH 3,5 y concentración del 12% (p/p) en ausencia y presencia de CaCl_2 0,2 M. Las soluciones fueron gelificadas en tubos de ensayo cerrados. Los geles así obtenidos fueron almacenados al menos 24 horas antes de su análisis. Se diluyeron 1:5 y el pH se ajustó a 7,0 y se filtraron al momento del análisis con un microfiltro de 0,45 μ m de diámetro de poro (Whatman International Ltd., England).

Medición del tamaño de partícula

El tamaño de partícula fue determinado por dispersión de luz láser (DLS, siglas en inglés) a temperatura ambiente con un equipo Zetasizer Nano-Zs, Malvern Instruments (Malvern, UK) provisto de un láser He-Ne (633 nm) y un correlador digital (modelo ZEN3600). Las mediciones fueron realizadas con un ángulo de dispersión fijo de 173°. La técnica de DLS consiste en iluminar la cubeta con un rayo láser y registrar la intensidad de la luz dispersada por las partículas de la muestra. El diámetro de la partícula se relaciona con su difusividad mediante la ecuación de Stokes-Einstein

$$d(H) = \frac{kT}{3\pi\eta D} \quad (2)$$

donde, $d(H)$: diámetro hidrodinámico (nm); D : coeficiente de difusión translacional ($m^2.s^{-1}$); k : constante de Boltzmann ($1,28 \times 10^{-23} N.m.K^{-1}$); T : temperatura absoluta (K); η viscosidad del solvente ($N.s.m^{-2}$).

Se utilizaron dos algoritmos incluidos en el software del equipo:

(i) El algoritmo CONTIN, para clasificar los datos de intensidad de las partículas/agregados en percentiles. El resultado obtenido se conoce como distribución de intensidad por tamaño de partículas. A través de la teoría de Mie, es posible convertir la distribución por intensidad en distribución por volumen y número de partículas.

(ii) El método cumulante, para calcular el diámetro promedio de la distribución de intensidad o Z-average y además conocer el índice de polidispersidad. El valor del Z-average es adecuado para obtener un valor medio con un propósito de comparación pero no lo es para dar una completa descripción de los resultados para sistemas polidispersos.

Los valores que se informan fueron el promedio de tres repeticiones por duplicado.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó utilizando el programa SPSS 15.0 (Statistical Package for the Social Sciences) para Windows. Se realizó la prueba de Tukey para determinar diferencias significativas a $p < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La **Figura 1** muestra, a modo de ejemplo, los reogramas correspondientes a la gelificación de soluciones 10% (p/p) de CMP en presencia de 0,2 M $CaCl_2$, que corresponde a una relación de 2,0 milimoles de $CaCl_2/g$ de CMP, a pH 3,0 y 3,5. A pH 3,0 se encontró un solo punto de gel y a pH 3,5 dos puntos de gel, t_{gel} y t_{gel2} . El primer punto de gel correspondiente al cruce entre G' y G'' fue aproximadamente 4 min para ambas condiciones de pH, valores similares a los obtenidos para las soluciones con CMP solo (datos no mostrados). La presencia de un segundo punto de gel a pH 3,5 estaría vinculada a las diferentes fracciones del CMP (glicosiladas y no glicosiladas) que gelifican en diversos tiempos (Martinez *et al.*, 2011).

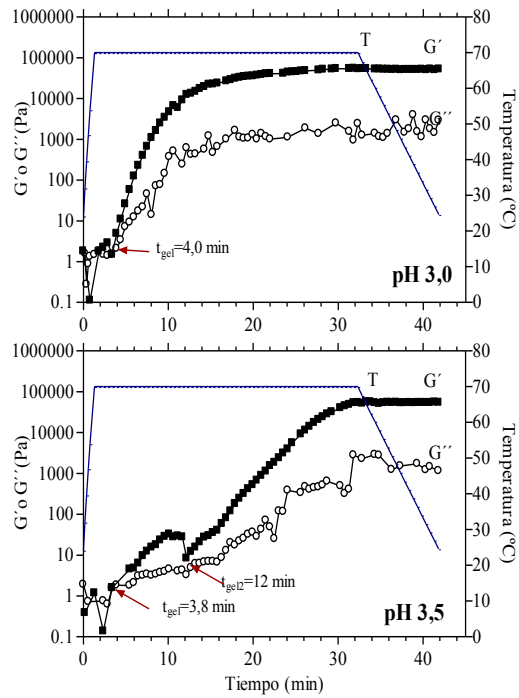


Figura 1: Evolución de G' (■) y G'' (○) de las soluciones CMP en presencia de 0,2 M de CaCl_2 durante el calentamiento a 70°C a diferentes valores de pH (3,0 y 3,5). Se representa también el perfil de temperatura (—).

Es de notar que en el periodo de enfriamiento, G' no sufrió un posterior incremento (**Figura 1**) como ocurre típicamente en los geles de proteínas globulares (Martinez *et al.*, 2011). El incremento de G' con el enfriamiento está relacionado con el fortalecimiento de las estructuras por la formación de uniones puente hidrógeno que se promueven por las bajas temperaturas (Bryant y McClements, 1998). Esto revela que las uniones puente hidrógeno no predominarían en la consolidación de las estructuras gelificadas de CMP.

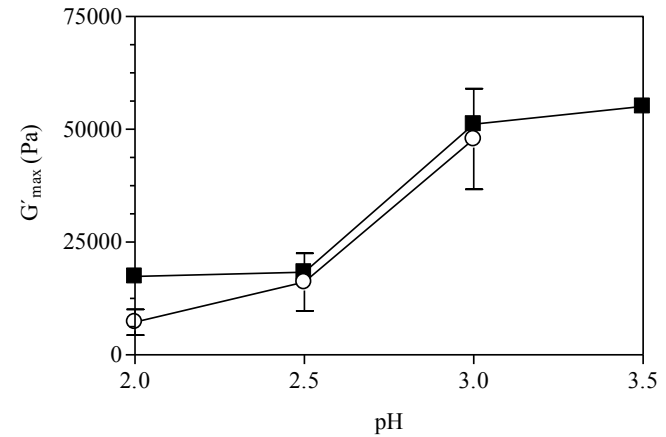


Figura 2: G'_{max} de geles de CMP en función del pH. Sin CaCl_2 (○) y en presencia de 0,2 M de CaCl_2 (■). El ajuste de pH se realizó con HCl. Las barras representan el desvío estándar (n = 3).

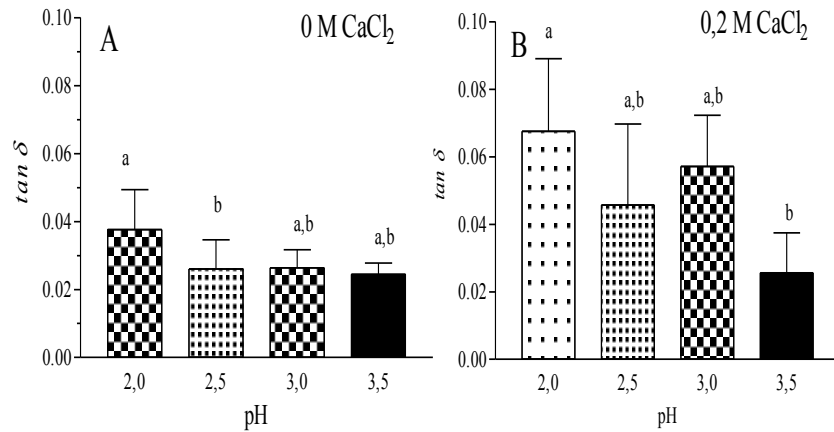


Figura 3: $\tan \delta$ en el equilibrio obtenida durante el período de enfriamiento en función del pH de geles de CMP. A) Sin CaCl_2 , B) en presencia de 0,2 M de CaCl_2 . Las barras representan el desvío estándar ($n = 5$).

El valor en el plateau G' obtenido en el período de enfriamiento se denominó G'_{max} . La **Figura 2** muestra como los valores de G'_{max} se incrementaron con el crecimiento del pH hacia 3,5 tanto en ausencia como en presencia de CaCl_2 (desde 17400 a 54900 Pa).

Durante la dinámica de gelificación, la $\tan \delta$ evolucionó hasta alcanzar un valor constante a todos los pH estudiados. La media de los últimos 5 valores de $\tan \delta$ obtenidos del periodo de enfriamiento se presentan en la **Figura 3** para los geles de CMP solo y en presencia de 0,2 M de CaCl_2 . Los valores de $\tan \delta$ fueron muy bajos, revelando que el comportamiento del gel es

primariamente elástico, los geles con CaCl_2 presentaron en general valores ligeramente más altos de $\tan \delta$ ($< 0,08$) en comparación a aquellos de CMP solo ($< 0,05$).

G' fue superior al de G'' en el rango de frecuencia aplicada como muestran los barridos de frecuencia de la **Figura 4**, evidenciando geles verdaderos. En la misma **Figura 2** se indica la dependencia con la frecuencia, n , calculada mediante la Ecuación 1. Los valores de n obtenidos fueron muy bajos, del orden de 10^{-2} , indicando la predominancia de la naturaleza elástica y decrecieron ligeramente al aumentar el pH hacia 3,5. El valor de n puede relacionarse con el tamaño de los agregados formados en la matriz que en este caso disminuyó ligeramente con el crecimiento del pH.

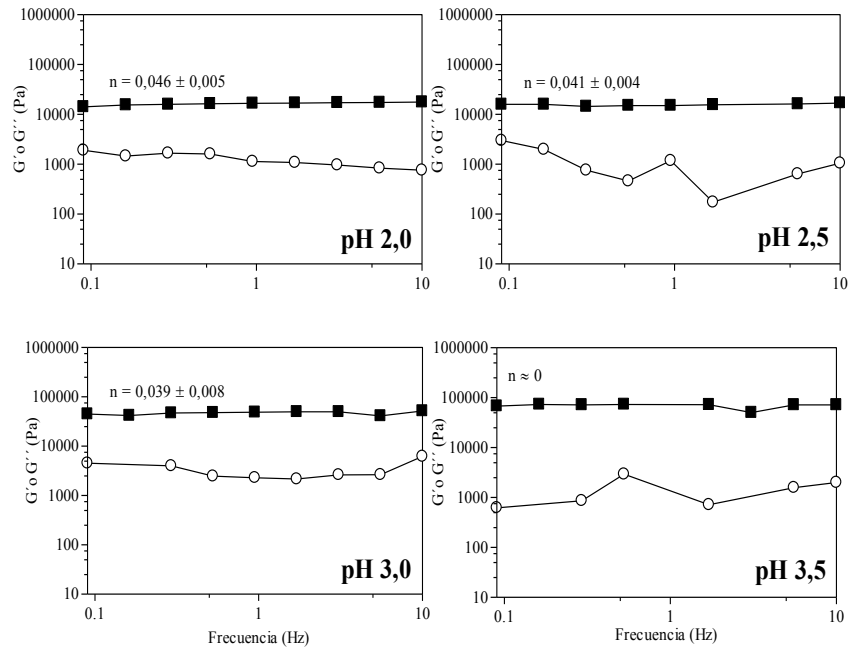


Figura 4: Variación de G' (■) y G'' (○) con la frecuencia de oscilación de geles de CMP en presencia de 0,2 M de CaCl_2 obtenidos a 70 °C y enfriados a 25 °C a diferentes valores de pH ajustado con HCl.

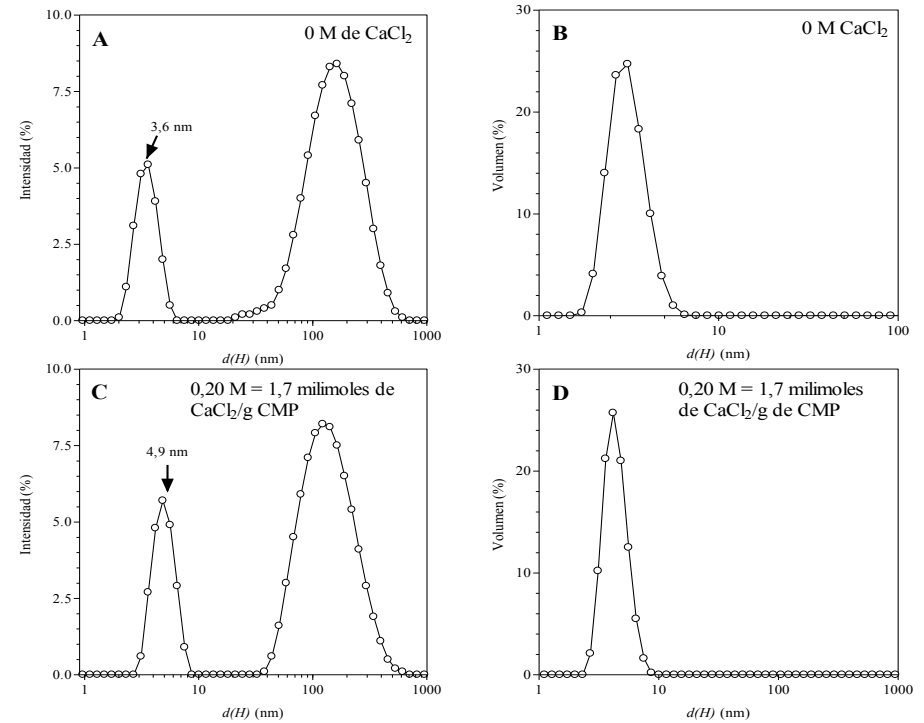


Figura 5: Distribución de tamaños de partículas por intensidad (izquierda) y volumen (derecha) a pH 7,0 de diluciones (1:5) de los geles de CMP formados a pH 3,5 y 70 °C en ausencia (A y B) y presencia de 0,2 M CaCl_2 (C y D).

Se realizaron los ensayos de reversibilidad de los geles de CMP formados a pH 3,5 y 70 °C en ausencia y presencia de 0,2 M CaCl_2 . Los geles se diluyeron 1:5 y el pH se ajustó a 7,0 para la correspondiente medición por DLS. Las soluciones fueron totalmente transparentes y sin precipitados. La **Figura 5** muestra

las distribuciones de tamaños de partículas por intensidad y volumen respectivamente de estas diluciones. Las soluciones de CMP gelificadas en ausencia de CaCl_2 mostraron dos poblaciones (**Figura 5A**) dónde la primera fue predominante según la distribución de tamaños de partícula por volumen (**Figura 5B**) correspondiendo a un diámetro hidrodinámico de 3,6 nm. Por otro lado, la distribución de tamaños de partícula por intensidad de las soluciones de CMP gelificado en presencia de 0,2 M de CaCl_2 también mostró dos poblaciones (**Figura 5C**) dónde el primero de los picos fue predominante (4,9 nm) según la distribución de tamaños por volumen (**Figura 5D**). Una estimación de la masa molecular del CMP con el software del Zetasizer Nano-Zs para proteínas globulares indicó que la forma monomérica del CMP (aproximadamente 7,5 kDa) debería tener un $d(H)$ aproximado de 2,6 nm, la forma dimérica 3,7 nm y la tetramérica 4,9 nm. Esta estimación es aproximada ya que el CMP no es una proteína globular (Ono *et al.*, 1987).

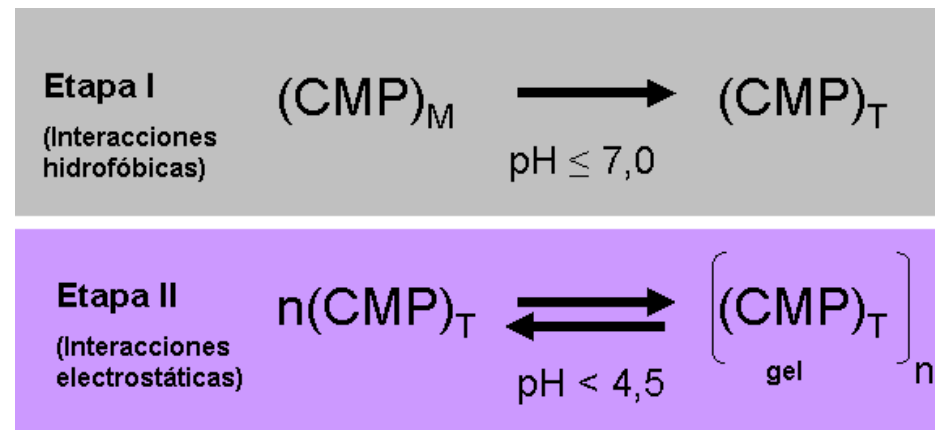


Figura 6: Mecanismo general de la gelificación del CMP en presencia de HCl y sales (NaCl o CaCl_2). Símbolos: $(\text{CMP})_M$: monómeros de CMP, $(\text{CMP})_T$: tetrameros de CMP, $[(\text{CMP})_T]_n$: polímeros de CMP (gel).

A partir de estos ensayos, se amplió el modelo de gelificación del CMP. A pH 7,0, muy por encima del pI del CMP, las cargas negativas correspondientes a los residuos de Asp, Glu, el residuo C-terminal, de los residuos de ácido siálico y de los posibles residuos de Ser fosforilados interactuarían con el catión calcio mediante uniones electrostáticas, por lo cual la carga se reduciría facilitando las interacciones hidrofóbicas entre las moléculas de CMP (Etapa I de la **Figura 6**). Los estudios de DLS mostraron que las soluciones con muy baja relación de CaCl_2/CMP (< 0,2 milimoles/g) a pH 7,0 presentaron como estructura predominante a la dimérica pero al aumentar la relación de CaCl_2/CMP (> 0,8 milimoles/g) se forman tetrameros y a relaciones mayores hexámeros (Farías *et al.*, 2014). Este efecto no es específico para el calcio ya que cuando se incorpora NaCl (relación de 4 milimoles/g de CMP) a una solución a pH 7,0 de CMP también se forman tetrameros (datos no mostrados). Los estudios de reversibilidad mostraron que en presencia de sales el CMP forma un tetramero que es resistente a los cambios de pH por lo cual se infiere que el tetramero de CMP estaría unido hidrofóbicamente. Mikkelsen *et al.* (2005) demostraron la ausencia de uniones covalentes en fracciones tetraméricas de CMP insensibles a los cambios de pH aisladas por SEC (cromatografía de exclusión molecular). Estos autores sugirieron que tanto las fracciones diméricas como las tetraméricas están unidas por uniones hidrofóbicas.

A pH menor a 4,5, los tetrámeros de CMP formados a pH neutro en presencia de CaCl_2 o NaCl pueden interactuar electrostáticamente. Un exceso de CaCl_2 debilita las interacciones electrostáticas, especialmente a pH 3,5.

CONCLUSIONES

Los geles de CMP formados por calentamiento en condiciones ácidas ($\text{pH} < 4,5$) con 0,2 M de CaCl_2 mostraron un comportamiento reológico similar a aquellos formados en ausencia de cloruro de calcio. Los barridos de frecuencia mostraron la formación de geles verdaderos ($G' > G''$). Los geles obtenidos en presencia de CaCl_2 revirtieron ante el cambio de pH (7,0) evidenciando que la forma tetramérica fue la resistente a los ulteriores cambios de pH.

BIBLIOGRAFÍA

- Bryant, C. y McClements J. (1998). Molecular basis of protein functionality with special consideration of cold-set gels derived from heat denatured whey. *Trends in Food Science and Technology*, 9, 143-151.
- Coolbear, K.P., Elgar D.F. y Ayers J.S. (1996). Profiling of genetic variants of bovine k-casein macropeptide by electrophoretic and chromatographic techniques. *International Dairy Journal*, 6(11-12), 1055-1068.
- Farías, M.E., Martínez M.J. y Pilosof A.M.R. (2010). Casein glycomacropeptide pH-dependent self-assembly and cold gelation. *International Dairy Journal*, 20, 79-88.
- Farías, M.E. y Pilosof A.M.R. (2009). Influencia del pH y la concentración en la gelificación del caseinoglicomacropéptido. *Trabajos completos del III Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Tomo IV. Ciencia y Tecnología de los Alimentos: Avances en Análisis Físicos, Químicos y Sensoriales*, 133- 139.
- Farías, M.E. y Pilosof A.M.R. (2014). Influencia de las sales en las nanoestructuras de CMP. *Revista Tecnología y Ciencia*, 12 N° 24 Mayo 2014, 193-200.
- Fernando, S.F. y Woonton B.W. (2010). Quantitation of N-acetylneuraminic (sialic) acid in bovine glycomacropeptide (GMP). *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(4), 359-366.
- Kreuz, M., Strixner T. y Kulozik U. (2009). The effect of glycosylation on the interfacial properties of bovine caseinomacropeptide. *Food Hydrocolloids*, 23, 1818-1826.

Martinez, M.J., Farías M.E. y Pilosof A.M.R. (2010). The dynamics of heat gelation of casein glycomacropeptide - [beta]-lactoglobulin mixtures as affected by interactions in the aqueous phase. *International Dairy Journal*, 20(9), 580-588.

Martinez, M.J., Farías M.E. y Pilosof A.M.R. (2011). Casein glycomacropeptide pH-driven self-assembly and gelation upon heating. *Food Hydrocolloids*, 25(5), 860-867.

Mikkelsen, T., Frøkiær H., Topp C., Bonomi F., Iametti S., Picariello G. et al. (2005). Caseinomacropeptide self-association is dependent on whether the peptide is free or restricted in k-Casein. *Journal of Dairy Science*, 88, 4228–4238.

Ono, T., Yada R., Yutani K. y Nakai S. (1987). Comparison of conformations of k-casein, para-k-casein and glycomacropeptide. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology*, 911(3), 318-325.

Stading, M. y Hermansson A.-M. (1990). Viscoelastic behaviour of b-lactoglobulin gel structures. *Food Hydrocolloids*, 4(2), 121-135.

Thöma-Worringer, C., Sørensen J. y López-Fandiño R. (2006). Health effects and technological features of caseinomacropeptide. *International Dairy Journal*, 16, 1324–1333.

Thomä, T. y Kulozik U. (2004). Methods of obtaining isolated caseinomacropeptide from milk and whey and functional properties. *Bulletin of the IDF*, 389, 74-77.

von Staszewski, M., Jara F.L., Ruiz A.L.T.G., Jagus R.J., Carvalho J.E. y Pilosof A.M.R. (2012). Nanocomplex formation between b-lactoglobulin or caseinomacropeptide and green tea polyphenols: Impact on protein gelation and polyphenols antiproliferative activity. *Journal of Functional Foods*, 4(4), 800-809.

AGRADECIMIENTOS

Al Departamento de Tecnología de la Universidad Nacional de Luján, a la Universidad de Buenos Aires, al CONICET y a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica de la República Argentina.

ESTUDIO DE PROPIEDADES FÍSICAS DE GRANOS DE CARDO DE CASTILLA, UN RECURSO CON POTENCIAL USO ALIMENTICIO

Ferro L.¹, Sologubik C.¹, Nolasco S.M.¹, Fernández M.B.^{1,2}

1: TECSE- Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Olavarría, Buenos Aires, Argentina.

2: CIFICEN (Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires - CONICET), Argentina

mbfernan@fio.unicen.edu.ar

Resumen: El grano de cardo de Castilla posee un interesante contenido de proteína (~15%) y de aceite (~25%). En este trabajo se propone estudiar diferentes propiedades físicas de granos de *Cynara cardunculus* L., en un rango de humedad del 6 al 16 % (base seca). Las longitudes características resultaron de 3,20-3,40 mm, 6,82-7,09 mm y 2,27-2,39 mm para ancho, largo y espesor, respectivamente, estos valores no mostraron significativas variaciones respecto a la humedad ($p \geq 0,05$). Con estos datos se calcularon características morfológicas como valores de esfericidad, diámetro medio aritmético, diámetro medio geométrico, relación de aspecto, volumen y área superficial de los granos, generándose resultados de 53,9-54,5 %, 4,1-4,3 mm, 3,67-3,87 mm, 0,469-0,482, 27-31 mm³ y 37,7-41,9 mm², respectivamente. El peso de 1000 granos se correlacionó positivamente en función de esta variable y la densidad aparente mostró una tendencia lineal decreciente respecto a la humedad de los granos. Se observó una tendencia lineal creciente del

coeficiente estático de rozamiento sobre superficie de aluminio en función del contenido de humedad. El conocimiento de estas propiedades resulta esencial en muchos problemas asociados con el diseño de maquinaria específica, estructuras, procesos, controles y en el análisis del comportamiento del producto en el transporte, manejo y almacenamiento.

Palabras Clave: Cardo de Castilla, granos, propiedades físicas, humedad

Abstract: Cardoon (*Cynara cardunculus* L.) seed has an interesting protein (~15%) and oil (~25%) content. In this paper different physical properties of *Cynara cardunculus* L. seeds were studied in a moisture range of 6 to 16% (dry basis). Lengths of 3.20-3.40 mm, 6.82 to 7.09 mm and 2.27 to 2.39 mm in width, length and thickness, respectively, these values did not vary significantly with respect to moisture ($p \geq 0,05$). With these data, morphological features like sphericity values, arithmetic mean diameter, geometric mean diameter, aspect ratio, volume and surface area of grains were calculated, generating results from 53.9 to 54.5%, 4.1-4.3 mm, 3.67 to 3.87 mm, 0.469-0.482, 27-31 mm³ and 37.7 to 41.9 mm², respectively. Weight of thousand grains was positively correlated with this variable and the bulk density showed a decreasing linear trend regarding grain moisture. When the test was conducted on aluminum surface coefficient of static friction, showed an increasing linear trend with the moisture content. Knowledge of physical properties is essential to many problems associated with the design of specific machinery, structures, processes, control and analysis of the behavior of the product during transport, handling and storage.

Keywords: Cardoon, grains, physical properties, moisture

INTRODUCCIÓN

El cardo de Castilla (*Cynara cardunculus* L., **Figura 1A**) es originario de la región del Mediterráneo. A mediados del siglo XVIII, se produjo una invasión del cardo de Castilla en las pampas argentinas. Tradicionalmente, la planta se ha cultivado para uso alimenticio en lo que respecta a tallos o pencas, por ejemplo en preparaciones típicas de la región de los Alpes Piamonteses, como la Bagna Cauda. Un uso más difundido de esta planta es como forraje o como biomasa para la obtención de energía por combustión. Sin embargo, el aprovechamiento de los granos sólo se ha limitado a usos industriales en países europeos, mientras que en Argentina este recurso no se ha explotado. Su grano (**Figura 1B**) posee un contenido elevado de proteína (próximo al 15%), y un contenido de aceite del 25%. El aceite de la semilla tiene una composición similar al aceite de girasol, siendo los cuatro ácidos grasos principales: 11-14% de ácido palmítico, al rededor 3% de ácido esteárico, 25% de ácido oleico y 56% de ácido linoleico (Encinar *et al.* 1999). Maccarone *et al.* (1999) reportaron una relación de ácidos insaturados a saturados de aproximadamente 5,7, un cociente balanceado de ácidos insaturados linoleico/oleico (alrededor de 1,8) y ausencia de ácido erúcido. A su vez, el aceite contiene niveles significantes de α -tocoferol (vitamina E), que actúa como antioxidante. La cantidad de tocoferoles reportada fue de 546 g/1000 g de aceite, similar a los valores obtenidos en aceites de maíz, cártamo y girasol (Maccarone *et al.* 1999). Estas características hacen que el aceite de cardo de Castilla sea apto para el consumo humano (Raccuia y Melilli 2007). El valor nutritivo de la semilla de cardo

de castilla está condicionado principalmente por su alto contenido de cáscara (45%), mayor al registrado para otras oleaginosas, como la colza (15-20%) o girasol (30%). Como la cáscara de cardo de castilla posee altos niveles de fibra y lignina, similares a los de cáscara de girasol, la concentración de estos constituyentes es mucho mayor que en otros granos (Raccuia y Melilli 2007).



(a)



(b)

Figura 1: Planta de Cardo de Castilla (a) y sus granos (b)

En la Provincia de Buenos Aires, *Cynara cardunculus* L. está clasificado como maleza (Decreto 4.328, Ley Provincial de Sanidad Vegetal 5.770). Pero una maleza a la que se le encuentre valor agrícola (alimentario, industrial, etc.) en determinada zona, deja de serlo y se transforma en un cultivo (Marzocca 1976). Además de la ventaja de darle utilidad a un recurso actualmente desaprovechado, *Cynara cardunculus* L. puede cultivarse en

regiones donde no compite con los cultivos oleaginosos tradicionales, por sus características agronómicas de menor requerimiento hídrico. Al estar desplazado hacia tierras marginales, también se promueve la generación de empleo y se genera actividad en el medio rural, lo que contribuye al desarrollo local. A su vez, por ser un cultivo perenne, evita la degradación de los suelos y es menor la necesidad de fertilizantes, plaguicidas y herbicidas (Falasca y Ulberich 2013).

Las propiedades físicas de los granos: tamaño (largo, ancho y espesor), volumen, área superficial, esfericidad, densidad, porosidad, peso de 1000 granos, coeficiente de fricción, son características de importancia relevante. Resulta esencial su conocimiento en muchos problemas asociados con el diseño de maquinaria específica, estructuras, procesos y controles y en el análisis del comportamiento del producto en el transporte, manejo y almacenamiento (Mohsenin 1986). Las propiedades físicas de *Cynara cardunculus* L. han sido escasamente estudiadas (Foti *et al.* 1999, Raccaia y Melilli 2007).

En este trabajo se propone estudiar diferentes propiedades físicas de granos de *Cynara cardunculus* L., en un rango de humedad del 6 al 16 % (expresada en base seca).

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

La materia prima utilizada fue cosechada manualmente de campos y de terrenos baldíos de la localidad de Olavarría (Buenos Aires, Argentina). Se recolectaron las cabezuelas y luego se separaron los granos mediante leve impacto sobre una superficie plástica, generando el desprendimiento de los mismos.

Caracterización:

Contenido de humedad

Se depositaron 5 g de semillas en cápsulas pre-taradas de aluminio y se colocaron en estufa de aire forzado a 105 °C hasta alcanzar peso constante (Raccaia y Piscioneri, 2011). La cantidad de agua contenida en la muestra se determinó gravimétricamente, por diferencia de peso. Esta determinación se realizó por triplicado.

Acondicionamiento de los granos

Las propiedades físicas de los granos de cardo de Castilla se evaluaron en seis niveles de humedad, en fracciones de aproximadamente 300 g cada una. Una fracción se mantuvo en condiciones de humedad inicial, dos fueron acondicionadas a menor contenido de humedad que la inicial, mientras que las restantes tres fueron acondicionadas a mayor contenido de humedad.

Las fracciones con menor contenido de humedad fueron secadas en bandejas a 42 °C en estufa de aire forzado, condiciones establecidas por Guiotto (2008) para chíá, con el fin de no alterar las características proteicas y del aceite. Para homogeneizar el contenido de humedad, las semillas se almacenaron a 5 °C luego del secado en recipiente hermético durante 72 horas.

Para obtener fracciones con mayor contenido de humedad que el inicial se utilizó el método de humectación directa con agua destilada, según el procedimiento indicado por Deshpande *et al.* (1993) para semilla de soja. Cada muestra se colocó en un recipiente, las semillas se rociaron con la cantidad de agua

necesaria calculada, el recipiente se tapó herméticamente y se almacenó a 5 °C durante una semana.

Previo a la realización de las determinaciones, las muestras fueron retiradas de la heladera y mantenidas a temperatura ambiente por dos horas.

Propiedades físicas:

Longitudes características

Se dividió cada fracción en tres submuestras. Se recolectaron 200 semillas de cada una de las submuestras y las 600 semillas resultantes fueron mezcladas. Finalmente 50 semillas fueron tomadas al azar a partir de las 600, y sobre éstas se realizaron las mediciones (Dutta *et al* 1988).

Las dimensiones ortogonales largo (a), ancho (b) y espesor (c) se determinaron con un micrómetro Mitutoyo (Japón) (**Figura 2**).

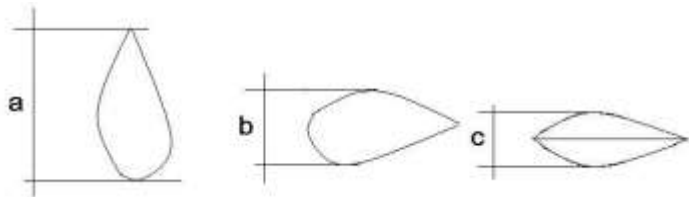


Figura 2: Dimensiones ortogonales largo (a), ancho (b) y espesor (c)

La morfología del grano se puede expresar en función de la esfericidad. Asumiendo que el volumen de la semilla es igual al

volumen de un elipsoide de sus mismas longitudes características a, b y c, el grado de esfericidad puede calcularse como:

$$\text{Esfericidad} = (a \cdot b \cdot c)^{1/3} / a \quad (1)$$

Cálculo del diámetro medio aritmético (D_a)

$$D_a = (a + b + c) / 3 \quad (2)$$

y el diámetro medio geométrico (D_g)

$$D_g = (a \cdot b \cdot c)^{1/3} \quad (3)$$

La relación de aspecto R_a se calcula como

$$R_a = (b/a) \quad (4)$$

Se utilizaron las expresiones reportadas por Seifi *et al.* (2010) para el cálculo de volumen y área superficial de los granos:

$$\text{Volumen} = 0,25 [(\pi/6) \cdot a \cdot (b+c)^2] \quad (5)$$

$$\text{Área superficial} = (\pi \cdot B \cdot a^2) / (2 \cdot a - b) \quad (6)$$

$$\text{donde } B = (b \cdot c)^{1/2} \quad (7)$$

Peso de 1000 semillas

Se seleccionaron al azar 100 granos de cada fracción. Se pesan y se calcula el peso promedio. Se multiplica por 10 para extrapolar el peso a 1000 semillas. Los resultados se expresan en base seca (Coşkuner y Karababa, 2007).

Densidad aparente

Para determinar la densidad aparente se utilizó un recipiente aforado de 90 cm³. Los granos se dejaron caer desde una altura de 15 centímetros de forma constante, cuidando que el recipiente se llenara completamente pero sin compactar las semillas. La densidad aparente se determinó mediante la relación masa: volumen (Singh y Goswami 1996). Se llevaron a cabo 10 repeticiones para cada nivel de humedad (Rojas 2010).

Coefficiente estático de fricción

Se determinó sobre superficie de aluminio. Para ello se colocó un cilindro hueco de 50 mm de diámetro y 50 mm de alto, abierto en ambos lados sobre un plano inclinado ajustable, lleno con la muestra de granos, de manera que el cilindro no estuviese en contacto con la superficie. Se aumentó gradualmente la inclinación de la superficie estructural con el cilindro en reposo mediante un tornillo hasta que el cilindro conteniendo granos comience a deslizarse. Se midió el ángulo de inclinación α y se calculó el coeficiente estático de fricción μ según la siguiente expresión (Singh y Goswami 1996):

$$\mu = \tan(\alpha)$$

Análisis de resultados

Se analizó la relación entre humedad y propiedades físicas mediante la técnica estadística de análisis de la varianza (ANOVA), utilizando el Software Infostat 6.0 (2003). Para

determinar diferencias significativas entre medias de las variables estudiadas se recurrió a la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la **Tabla 1** se muestran las longitudes características de los granos. Las longitudes características resultaron de 3,20-3,40 mm, 6,82-7,09 mm y 2,27-2,39 mm para ancho, largo y espesor, respectivamente.

Tabla 1: Longitudes características de los granos a distintos contenidos de humedad

Humedad (% b.s.)	Largo (mm)	Ancho (mm)	Espesor (mm)
6,0	6,90 (0,09)	3,22 (0,05)	2,29 (0,03)
7,6	6,83 (0,11)	3,20 (0,06)	2,27 (0,03)
10,1	6,97 (0,09)	3,28 (0,05)	2,29 (0,03)
12,1	7,09 (0,11)	3,40 (0,06)	2,39 (0,04)
14,3	6,82 (0,09)	3,25 (0,05)	2,37 (0,03)
16,3	6,87 (0,09)	3,33 (0,05)	2,36 (0,03)

Se analizaron estos resultados mediante el análisis de la varianza (ANOVA) en conjunto con el Test de Tukey, no encontrándose diferencias significativas de cada uno de estos parámetros a los distintos niveles de humedad ($p \geq 0,05$). En la literatura se han reportado resultados divergentes respecto a las tendencias de estas propiedades en función de la humedad en varios granos. La influencia no significativa de la humedad sobre estas características concuerda con lo encontrado para cártamo

(Baümler *et al.* 2006) y girasol alto oleico (Santalla y Mascheroni 2003). Sin embargo, varios autores encontraron tendencias crecientes en sorgo, remolacha, rosa y chía (Mwithiga y Sifuna 2006, Dursun *et al.* 2007, Sanchez-Mendoza *et al.* 2008 y Guiotto 2008).

Con estos datos se calcularon valores de esfericidad, diámetro medio aritmético, diámetro medio geométrico, relación de aspecto, volumen y área superficial de los granos, generándose los resultados resumidos en la **Tabla 2**.

Tabla 2: Características físicas del grano de Cardo de Castilla

Parámetro	Media aritmética	Desvío estándar
Esfericidad (%)	54,3	0,6
D _a (mm)	4,17	0,07
D _g (mm)	3,75	0,07
R _a	0,474	0,007
Vol (mm ³)	29	1,5
A _{sup} (mm ²)	39,4	1,4

La esfericidad de la semilla de cardo de Castilla presentó un valor cercano al reportado para cebada (51-53 %, Sologubik *et al.* 2013), cártamo (59 %, Baümler *et al.* 2006) y gona (51,9%, Aviara *et al.* 1999) y en el rango de los encontrados para girasol (46 – 67 %, Gupta y Das 1998). El grano de cardo de Castilla presentaría una mayor dificultad para rodar respecto a los granos de chía, quinoa, soja, amaranto y colza, para los cuales se a

determinado una mayor esfericidad, 65,8- 67,6%, 77,0-80,0 %, 80,6-81,6 %, 82,0 % y 93,0-92,0 %, respectivamente (Guiotto *et al.* 2013, Vilche *et al.* 2003, Abalone *et al.* 2004, Casilir *et al.* 2005): Esta tendencia a rodar es necesaria considerar en el diseño de tolvas y de equipos de descascarado de semillas.

Asimismo, el diámetro medio aritmético (D_a), diámetro medio geométrico (D_g) y volumen (Vol) de los granos de cardo es menor respecto de las especies previamente mencionadas, indicativo de su menor tamaño. En función de su diámetro geométrico el cardo estaría agrupado dentro de los granos medianos (granos con 3 mm < D_g < 4 mm) según la clasificación definida por Guiotto (2008).

El peso de 1000 granos se correlacionó positivamente en función de la humedad (**Figura 1**), encontrándose en el rango de 26,8-32,2 g. Un comportamiento similar fue reportado para cebada, chía, girasol, cártamo, soja y soja (Sologubik *et al.* 2013; Guiotto *et al.* 2013).

La densidad aparente (0,68-0,70 g/cm³) disminuyó a medida de la humedad del grano aumentó, encontrándose una correlación lineal entre estas variables (**Figura 2**). Tendencias similares fueron reportadas para canola (Çalisir *et al.* 2005), quinoa (Vilche *et al.* 2003), amaranto (Abalone *et al.* 2004), girasol (Gupta & Das 1997) y cebada (Sologubik *et al.* 2013).

En la **Figura 3** se observan los valores del coeficiente estático de rozamiento sobre superficie de aluminio en función de la humedad de la materia prima, expresada como porcentaje en base seca. Se obtuvieron valores de 0,286-0,300, observándose una tendencia lineal creciente en función del contenido de humedad. Este incremento podría deberse al hecho de que a mayor contenido de agua en los granos el material posee una mayor fuerza de fricción con la superficie de contacto (Sologubik

et al. 2013). Como consecuencia, el agua presente en la semilla ofrece una fuerza cohesiva en la superficie de contacto, disminuyendo las características de deslizamiento de la semilla. Esta tendencia es similar a las reportadas para otros granos, por ejemplo comino (Singh y Giswai 1996), lino (Coskuner y Karababa 2007) y chía (Guiotto *et al.* 2011).

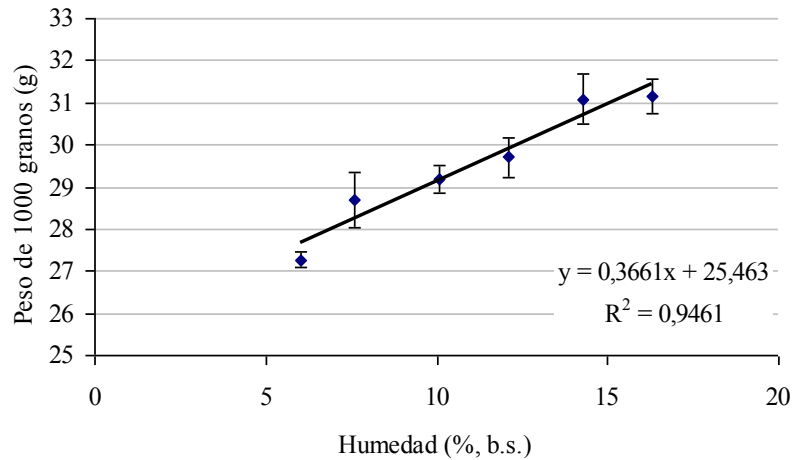


Figura 1: Peso de mil granos en función de la humedad.

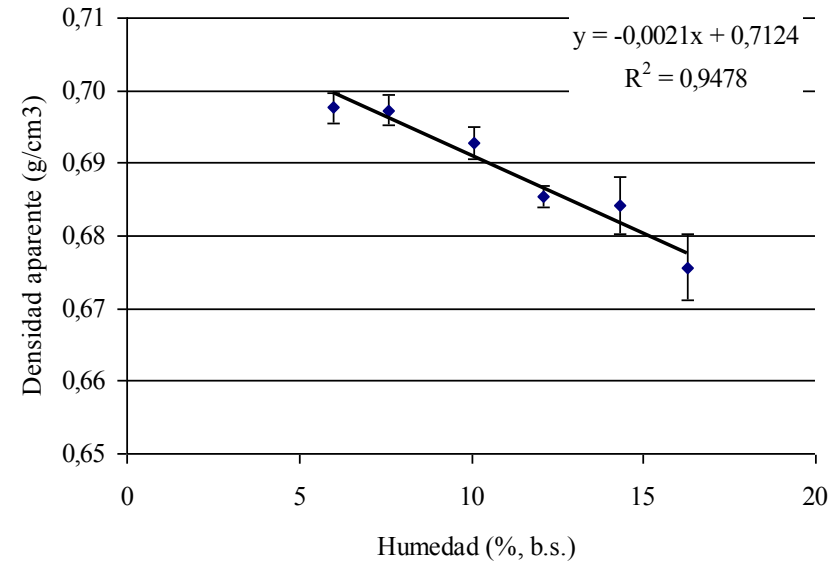


Figura 2: Densidad aparente en función de la humedad

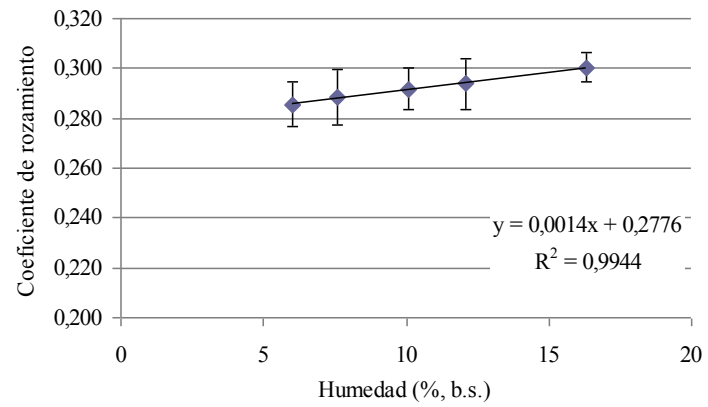


Figura 3. Coeficiente de rozamiento en función de la humedad.

CONCLUSIONES

Se determinaron propiedades físicas de granos de cardo de Castilla en función de la humedad. Las longitudes características largo, ancho y espesor no fueron influenciadas por el contenido de agua de los granos. El coeficiente de rozamiento y el peso de mil granos mostraron tendencias lineales crecientes con la humedad, mientras que la densidad aparente se correlacionó negativamente con esta variable. El valor de esta información básica es importante para tecnólogos y científicos, ya que el conocimiento de las propiedades ingenieriles y su dependencia con la humedad son necesarias para el diseño de equipos en las distintas etapas de su procesamiento. Sería de gran interés completar este estudio con datos de densidad real, porosidad y ángulo de reposo y su dependencia con la humedad.

BIBLIOGRAFÍA

- Abalone R, Cassinera A, Gastón S, Lara MA. 2004. Some physical properties of amaranth seeds. *Biosystem Engineering*, 89:109-117.
- Aviara N, Gwandzang M, Haque M. 1999. Physical properties of guna seeds. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 73:105-111.
- Bäumler E, Cuniberti A, Nolasco SM, Riccobene IC. 2006. Moisture dependent physical and compression properties of safflower seed. *Journal of Food Engineering*, 72:134-140.
- Çalışır S, Marakoğlu T, Öğüt H, Öztürk O. 2005. Physical properties of rapeseed (*Brassica napus oleifera* L.). *Journal of Food Engineering*, 69:61-66.
- Coşkuner Y, Karababa E. 2007. Some physical properties of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). 2007. *Journal of Food Engineering*, 78:1067-1073.
- Deshpande SD, Bal S, Ojha TP. 1993. Physical Properties of Soybean. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 56:89-98.
- Dursun I, Tugrul K, Dursun E. 2007. Some physical properties of sugarbeet seed. *Journal of Stored Products Research*, 43:149-155.
- Dutta SK, Nema VK, Bhardwaj RK. 1988. Physical properties of gram. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 39:259-268.
- Encinar JM, González JF, Sabio E, Ramiro MJ. 1999. Preparation and Properties of Biodiesel from *Cynara cardunculus* L. *Oil. Industrial & Engineering Chemistry Research*, 38:2927-2931.
- Falasca S, Ulberich A. 2013 ¿Una plaga nacional utilizable como cultivo energético en áreas semidesérticas de Argentina?

http://www.biodiesel.com.ar/download/cinea_plaganacional.pdf [28/08/2013].

Foti S, Mauromicale G, Raccuia SA, Fallico B, Fanella F, Maccarone E. 1999. Possible alternative utilization of *Cynara* spp. I. Biomass, grain yield and chemical composition of grain. *Industrial Crops and Products*, 10:219–228.

Guiotto E, Ixtaina VY, Tomás MC, Nolasco SM. 2011. Influence of moisture content on physical properties of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. *Transactions of ASABE*, 54:527–533.

Guiotto EN, Ixtaina VY, Tomás M, Nolasco SM. 2013. Moisture-dependent engineering properties of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. *Food Industry*. ISBN 980-953-307-860-6. Editor: Dr Innocenzo Muzzalupo. Ed. INTECH, Croacia and China, 17:381–39.

Guiotto EN. 2008. Efecto de la humedad sobre las propiedades físicas de la semilla de Chía (*Salvia hispánica* L.). Tesis Licenciatura en Tecnología de los Alimentos. Dpto. de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, UNCPBA, Olavarría, Argentina.

Gupta RK, Das SK. 1997. Physical Properties of Sunflower Seeds. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 66:1 – 8.

Maccarone E, Fallico B, Fanella F, Mauromicale G, Raccuia SA, Foti S. 1999. Possible alternative utilization of *Cynara* spp. II Chemical characterization of their grain oil. *Industrial Crops and Products*, 10: 229–237

Marzocca Á. 1976. Manual de malezas. Buenos Aires: Hemisferio Sur

Mohsenin NN. 1986. Physical properties of plant and animal material. New York: Gordon and Breach Science Publishers.

Mwithiga G, Sifuna MM. 2006. *Journal of Food Engineering*, 75:480–486.

Raccuia SA, Melilli MG. 2007. Biomass and grain yields in *Cynara cardunculus* L. Genotypes grown in a Mediterranean environment. *Field Crops Research*, 101:187–197.

Raccuia SA, Piscioneri I. 2011. Genetic variability in *Cynara cardunculus* L. domestic and wild types for grain oil production and fatty acids composition. *Biomass and Bioenergy*, 35:3167–3173.

Rojas AF. 2010. Caracterización Físico-Mecánica de la Semilla de Vitabosa. Tesis de Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional De Colombia, Medellín.

Sánchez-Mendoza J, Domínguez-López A, Navarro-Galindo S, López-Sandoval JA. 2008. Some physical properties of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) seeds as a function of moisture content. *Journal of Food Engineering*, 87:391–397.

Santalla E, Mascheroni R. 2003. *Food science and technology international*, 9:435–442.

Seifi MR, Alimardani, R, Akram A, Asakereh A. 2010. Moisture-Depend Physical Properties of Safflower (Goldasht). *Advance Journal of Food Science and Technology* 2:340–345.

Singh KK, Goswami TK. 1996. Physical Properties of Cumin Seed. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 64:93–98.

Sologubik C, Campañone L, Pagano A, Gely, M. 2013. Effect of moisture content on some physical properties of barley. *Industrial Crops and Products*, 43:762–767.

Vilche C, Gely M, Santalla E. 2003. Physical properties of quinoa seeds. *Biosystems Engineering*, 86:59–65.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Cabaña La Mascota S.C.A. por haber facilitado la cosecha de la materia prima, y agradecen el financiamiento de este trabajo a la Universidad Nacional del

Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA) y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

ISOTERMAS DE SORCIÓN DE PELÍCULAS COMESTIBLES BASADAS EN AISLADO DE PROTEÍNAS DEL LACTOSUERO Y FRUCTOOLIGOSACÁRIDOS

Figueredo A.¹, Bertuzzi M. A.², Maldonado S.¹

1: Ingeniería para el Desarrollo de la Agroindustria Regional (IDeAR). Centro de Investigación en Tecnología de Alimentos (CITA) Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de Jujuy.

2: Instituto de Investigaciones para la Ingeniería Química (INIQUI-CONICET) Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de Salta

smaldonado@fi.unju.edu.ar

Resumen: Debido a la hidrofiliidad de los componentes utilizados en la formulación de películas comestibles resulta de gran importancia el estudio de las interacciones entre el agua y la película, ya que sus propiedades funcionales dependen fuertemente del contenido de humedad. El objetivo de este trabajo fue estudiar las propiedades de sorción de películas comestibles formuladas en base a aislado de proteína de suero lácteo (APS), evaluando el efecto del agregado de fructooligosacáridos (FOS). Las isotermas de sorción se obtuvieron con el método isopiéstico a 25°C, cubriendo un rango de a_w entre 0,115 y 0,903. Los valores experimentales se ajustaron al modelo de GAB a partir del cual se obtuvieron las humedades de monocapa: 0,16±0,01; 0,18±0,02 y 0,16±0,03 g/g b.s.; las constantes c: 103,6; 21,15 y 47,80; k: 0,92±0,01; 0,83±0,03 y 0,88±0,06; para 1, 2 y 3% de FOS, respectivamente. Los valores

de k son menores a 1, mostrando la interacción entre las moléculas de la multicapa con el adsorbente. La forma de las isotermas obtenidas refleja que el comportamiento de sorción de las películas corresponde al presentado por formulaciones con altos contenidos de hidratos de carbono.

Palabras Clave: sorción, película comestible, proteína, modelo GAB.

Abstract: Due to the hydrophilicity of the components used in the formulation of edible films has a great importance the study of the interactions between water and the film, because their functional properties depend strongly on the moisture content. The aim of this work was to study the sorption properties of edible films based on whey protein isolated (WPI) and to evaluate the effect of fructooligosaccharides (FOS) addition. The sorption isotherms at 25°C were obtained through the isopiestic method, within a water activity range from 0.115 to 0.903. The experimental values were fitted using GAB model, from which the monolayer moisture contents were obtained: 0.16±0.01, 0.18±0.02 and 0.16±0.03 g/g d.b.; the constant c values: 103.6, 21.15, 47.80; k values: 0.92±0.01, 0.83±0.03 and 0.88±0.06; for 1, 2 and 3% of FOS, respectively. All values of k are below 1, showing the interaction between water molecules of the multilayer and the adsorbent. The isotherm obtained reflects the sorption behavior of formulations with high carbohydrate content. The shape of the isotherms reflects that the sorption behavior corresponds to that presented by films formulations with high carbohydrates contents.

Keywords: sorption, edible film, protein, GAB model.

INTRODUCCIÓN

El suero de leche se produce en grandes cantidades en la industria láctea y su producción anual aumenta continuamente (Banerjee y Chen 1996). En nuestro país se estima que se procesan con destino a quesos alrededor de 4.200 millones de litros de leche anuales, los que generan unos 3.800 millones de litros de suero, ya que se generan aproximadamente 91 litros suero por cada 100 litros de leche cruda (Schaller 2009). Es por ello que resulta importante profundizar la cadena de valor de la leche, revalorizando el suero lácteo, el que puede usarse como fuente de proteínas para la formulación de películas y recubrimientos comestibles destinados a mejorar el valor nutricional de alimentos y/o a prolongar su vida útil, siendo una buena alternativa por sus características funcionales y nutricionales (Márquez *et al.*, 2011).

El control del intercambio de humedad entre un producto alimenticio y sus alrededores es importante para mantener frescura, flavor y textura e inhibir el crecimiento microbiano (Krochta y De Mulder-Johnston 1997, Yoshida *et al.*, 2002). Las películas comestibles elaboradas en base a diferentes materias primas son utilizadas para controlar la transferencia de humedad, limitar el transporte de gas y la migración de grasa, impedir la absorción de sabores, soportar aditivos alimentarios como antimicrobianos y agentes antioxidantes, entre otras funciones. Las películas que se obtienen a partir de suero lácteo son transparentes, presentan buenas propiedades mecánicas y son buenas barreras al oxígeno, los componentes volátiles

responsables del sabor y los lípidos (McHugh y Krochta 1994; Miller Y Krochta 1997).

Las propiedades de barrera de las películas comestibles pueden verse afectadas por la estructura del biopolímero, concentración del plastificante, solvente y otros factores relacionados a la solución filmogénica, como la permeabilidad y las propiedades de difusión (Banker 1966, Yoshida et al. 2002). Es así que con el fin de reducir la fragilidad de la película y aumentar su flexibilidad y maleabilidad pueden añadirse plastificantes en su formulación, como por ejemplo agua o glicerol, siendo este último uno de los más utilizados en películas comestibles (Oses *et al.*, 2009).

En el diseño y formulación de películas biopoliméricas se pueden incorporar compuestos con características funcionales específicas conformando lo que se conoce como películas activas. En este trabajo se propone el agregado de fructooligosacáridos (FOS), dada la posibilidad de extraerlos del yacón, tubérculo andino producido en la zona. La estructura fundamental de los fructanos es un esqueleto de unidades de fructosa, unidas entre sí por enlaces glucosídicos β (2-1) y en raras ocasiones por enlaces β (2-6). La presencia de enlaces β (2-1) hace que los FOS no sean digeridos en el tracto digestivo del humano, lo que a su vez tiene como consecuencia que tengan un bajo valor calórico 1,5 kcal/g (Roberfroid 1999) y funcionalidad como fibra dietaria (Niness 1999). Además, son considerados como prebióticos ya que estimulan el crecimiento selectivo de bacterias intestinales promotoras de la salud, especialmente las bifidobacterias (Pedreschi *et al.*, 2003), ya que este grupo de microorganismos puede utilizarla como fuente de carbono. Se ha observado también un efecto favorable en la asimilación del calcio (Andersson *et al.* 2001). Los FOS son solubles en agua, poseen

capacidad edulcorante y pueden utilizarse como sustitutos del azúcar, ya que tienen aproximadamente el 30% del dulzor del azúcar de mesa (Coussement 1999; Niness 1999). El suero lácteo contiene además de las proteínas solubles de la leche y lactosa, metabolitos microbianos producidos durante el proceso de fermentación, que presentan capacidad inmunomoduladora (Vinderola 2008), lo que brindaría una funcionalidad probiótica adicional a la película. La utilización de FOS en la formulación de películas se fundamenta en las posibles interacciones con las proteínas, que pueden mejorar las propiedades funcionales de la matriz biopolimérica y su capacidad prebiótica. Castro y Gonzales Blair (2010) utilizaron FOS en un recubrimiento comestible en uchuvas (0,1 mg de FOS/g de uchuva), encontrando que la adición de FOS aporta un 8% más de fibra. Con respecto al consumo máximo de FOS, se encontró que un consumo mayor a 0,14 g/kg/día (9,8 g/día para una persona de 70 kg) produce efectos indeseables sobre la salud gastrointestinal (Ojansivu *et al.* 2011; Genta *et al.* 2009). Las propiedades de películas en base a la combinación de componentes como proteínas e hidratos de carbono o fibra dietaria están sujetas, no sólo a la funcionalidad individual de cada uno, sino también a la naturaleza y la fuerza de las interacciones entre ellos (De Souza *et al.*, 2004). Por lo tanto, es muy importante conocer estas relaciones para entender el efecto de los diversos factores, sobre las propiedades de las películas. El conocimiento de las curvas de sorción es útil para la predicción de la estabilidad microbiológica, enzimática y química, así como la elección de las condiciones de almacenamiento adecuadas (Djendoubi *et al.*, 2013). Mediante las isotermas de sorción de agua se puede predecir la relación entre la actividad de agua y la humedad de equilibrio a una dada temperatura.

La interacción del agua con polímeros debe ser considerada para explicar las modificaciones de las propiedades físicas inducidas por la presencia de humedad adsorbida. La adsorción de vapor de agua por los materiales secos se produce por la unión de las moléculas de agua a sitios hidrófilos específicos, tales como grupos carboxilos, amino y residuos hidroxílicos.

En base a lo anterior el objetivo de este estudio fue evaluar el comportamiento de sorción de vapor de agua de películas comestibles obtenidas a partir de suero de leche de vaca con el agregado de FOS en diferentes concentraciones, evaluando por tanto su efecto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se usó un aislado de suero de leche bovina marca Provon de Glanbia Nutritional (>90% b.s. de proteínas), glicerol de grado analítico marca Anedra. Se emplearon FOS (93,2% de pureza) provistos por Orafiti de Beneo.

Formulación del film

La película se formuló usando el aislado de suero de leche (APS) al 10% p/p en agua destilada, luego se agitó durante 1 hora a 215 rpm en un agitador orbital (Vicking Modelo M-23). Se ajustó el pH a 7 con solución de NaOH 0,1N y se calentó a 85°C durante 7 minutos para inducir la desnaturalización de las proteínas del lactosuero. Luego de enfriar se agregó glicerol en una proporción del 40 % p/p, en relación al suero utilizado y se agregaron 1, 2, y 3 % p/p de FOS.

Se colocaron 15 ml de cada solución filmogénica en cajas de Petri y se dejaron secar en estufa a 40°C, durante 24 hs.

Humedad

El contenido de humedad inicial de las muestras se determinó por triplicado en estufa de vacío a 65°C, según el método AOAC (16th) 44.01.03.

Determinación de la isoterma de sorción

Se secaron muestras de películas de proteína de suero de 2 cm x 2 cm en estufa de vacío a 65 ± 1°C. Se colocaron luego en ambientes de humedad relativa constante, generados por soluciones salinas saturadas cubriendo un rango de a_w entre 0,11 y 0,90 (**Tabla 1**) y se mantuvieron a 25 ± 1°C. Se siguió el peso de las muestras en el tiempo hasta alcanzar peso constante, es decir hasta que el sistema alcanzó el equilibrio.

Tabla 1: Actividad de agua de soluciones saturadas a 25°C

Sal	a_w (25°C)
Cloruro de Litio	0,113
Acetato de Potasio	0,225
Cloruro de Magnesio	0,328
Nitrato de Magnesio	0,529
Bromuro de Sodio	0,577
Ioduro de Potasio	0,692
Sulfato de Amonio	0,803
Cloruro de Bario	0,903

Fuente: Ross, 1995

Modelo matemático

Se utilizó el modelo de GAB (Guggenheim-Anderson-de Boer) para ajustar los datos experimentales de sorción de las películas estudiadas y se calcularon los valores de la humedad de monocapa a partir de la regresión de los datos experimentales con la siguiente ecuación:

$$M = \frac{c k M_0 a_w}{(1 - k a_w)(1 - k a_w + c k a_w)} \quad (1)$$

Donde c es la constante de Guggenheim, k es una constante correctiva que describe las propiedades de adsorción de agua más allá de la monocapa, M es el contenido de agua en el equilibrio (g/100g b.s.) y M_0 es el contenido de agua en la monocapa (g/100g b.s.). Los 3 parámetros (M_0 , c y k) caracterizan las interacciones del agua con los macrocomponentes del alimento (Bell y Labuza 2000). La calidad del ajuste del modelo propuesto se evaluó mediante el coeficiente de correlación (R^2), el que debe ser superior a 0,85 para un buen ajuste de los datos experimentales.

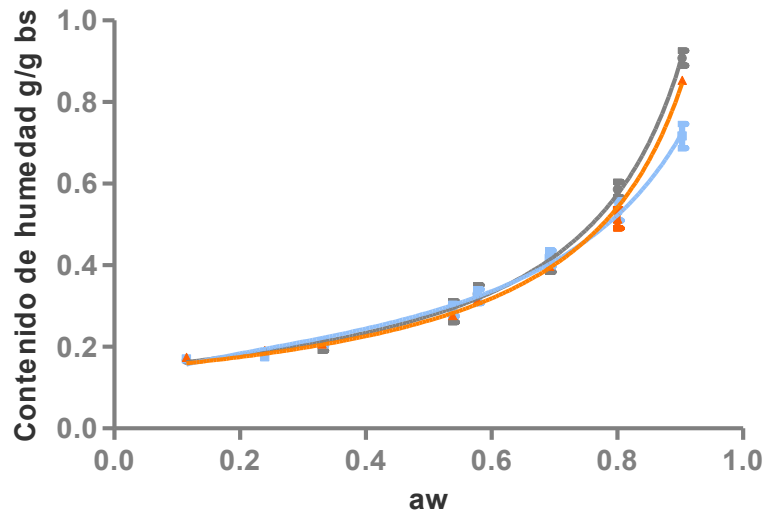
Análisis estadístico

Los datos experimentales de sorción se ajustaron usando un análisis de regresión no lineal, procedimiento realizado a través del Software Graph Pad Prism. Para discernir entre las medias se utilizó el procedimiento de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) con un nivel de confianza del 95% usando el programa Statgraphics Centurion XV.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La humedad inicial de las películas estudiadas fueron de $14,3 \pm 0,2$; $14,7 \pm 0,4$; $14,9 \pm 0,7$ g agua/g b.s. para 1, 2 y 3% de FOS, respectivamente. Estos valores de humedad no presentaron diferencias significativas entre sí verificado mediante pruebas de rangos múltiples del paquete estadístico Statgraphics Centurion XV.

La **Figura 1** muestra las isotermas de sorción de las películas elaboradas en base a suero de leche y FOS, a 25 °C. Se observa que las curvas son de tipo J, similar a lo encontrado para otras películas (Azevedo et al. 2015, Cho y Rhee 2002; Coupland 2000). En la **Figura 1** también se presenta el ajuste de los datos experimentales al modelo de GAB.



- Valores experimentales de sorción para 1% de FOS
- ▲ Valores experimentales de sorción para 2% de FOS
- Valores experimentales de sorción para 3% de FOS
- Valores predichos con la ecuación de GAB para 1% de FOS
- Valores predichos con la ecuación de GAB para 2% de FOS
- Valores predichos con la ecuación de GAB para 3% de FOS

Figura 1: Isoterma de adsorción de películas comestibles en base a APS y FOS a 25°C.

No se observa efecto de la concentración de FOS para a_w menores a 0,6, valor a partir del cual se presenta menor humedad de equilibrio a medida que aumenta la concentración de FOS. La película se vuelve menos higroscópica a medida que aumenta la concentración de FOS, lo que estaría relacionado con la disminución del número de sitios activos disponibles para la adsorción de agua. Este efecto es similar al encontrado para películas formadas con otros compuestos adicionados con el objeto de disminuir los sitios activos, a fin de controlar la adsorción de agua (Azevedo et al. 2015; Echeverría et al. 2014; Bertuzzi et al. 2007). Para confirmar este supuesto se calcularon los parámetros de la ecuación de GAB. En la **Tabla 2** se muestran los valores de k y M_0 y el coeficiente de correlación que se alcanza entre éstos. Se verifica un buen ajuste de los datos con el modelo utilizado.

De acuerdo a Lewicki (1997) las constantes c y k deben asumir valores en un rango entre $0,24 < k < 1$ y $5,67 < c < \infty$. El valor de c representa la constante de Guggenheim y está relacionada con el calor de adsorción de la monocapa. En todos los casos se obtuvieron valores de c positivos y mayores a 5,67. La constante k es una medida de la interacción entre las moléculas de la monocapa y las de la multicapa con el adsorbente. Cuando k es igual a 1 las moléculas de la multicapa tienen las propiedades del agua pura (Quirijns et al. 2005). Según se muestra en la **Tabla 2** todos los valores de k obtenidos son menores a 1.

El conocimiento del valor de humedad de la monocapa es de gran interés ya que indica la cantidad de agua que está

fuertemente adsorbida en sitios específicos de la superficie del alimento y es considerado como el valor óptimo para asegurar la estabilidad de las películas. La humedad de monocapa (M_0) representa el 1,11% de la humedad total contenida en la película con 1% de FOS, el 1,31% y el 1,20% para películas con 2 y 3% de FOS, respectivamente.

Tabla 2: Parámetros de ajuste al modelo de GAB (25°C)

Muestras	(%)FOS	M_0	c	k	R^2
Película 1	1	0,16 ± 0,01 ^a	103,6±10,1	0,92 ± 0,01 ^a	0,9983
Película 2	2	0,18 ± 0,02 ^a	21,15±2,12	0,83 ± 0,03 ^b	0,9893
Película 3	3	0,16 ± 0,03 ^a	80,92±2,02	0,88 ± 0,06 ^{ab}	0,9964

De acuerdo al análisis estadístico, la variación de la concentración de FOS en las formulaciones, entre 1 y 3%, no modifica el valor de la humedad de monocapa calculado a partir de la ecuación de GAB. El ajuste de los datos indica que puede usarse esta ecuación para predecir la sorción de vapor de agua de películas formadas con proteína de suero lácteo, glicerol y fructooligosacáridos a 25°C y en el rango de a_w entre 0,11 y 0,90. El valor de k disminuye significativamente cuando se aumenta la concentración de FOS de 1% a 2% no presentando diferencias significativas cuando se incrementa la concentración de 2 a 3%.

CONCLUSIONES

Las isothermas a 25 °C que representan el comportamiento de sorción de agua de películas en base a suero de leche con la adición de FOS, son de tipo J. La ecuación de GAB puede usarse para predecir adecuadamente el comportamiento de sorción de las películas, en las condiciones del estudio. La incorporación de FOS entre 1 y 3% no tuvo efecto significativo sobre el contenido de humedad de monocapa de las películas ni sobre el área superficial de sorción. Por ello se concluye que el agregado de FOS hasta un 3% no modifica significativamente el comportamiento de sorción de las películas de aislado de proteínas del lactosuero.

BIBLIOGRAFÍA

- Andersson, H., Asp, N. G., Bruce, A., Roos, S., Wadström, T., Wold, A. E. (2001). Health effects of probiotics and prebiotics A literature review on human studies. *Food & Nutrition Research*, 45, 58-75.
- Azevedo, V. M., Silva, E. K., Pereira, C. F. G., da Costa, J. M. G., Borges, S. V. (2015). Whey protein isolate biodegradable films: Influence of the citric acid and montmorillonite clay nanoparticles on the physical properties. *Food Hydrocolloids*.
- Banerjee, R., Chen, H., Wu, J. 1996. Milk Protein based Edible Film Mechanical Strength Changes due to Ultrasound Process. *Journal of Food Science*, 61(4), 824-828.
- Banker, G. S. 1966. Film coating theory and practice. *Journal of pharmaceutical Sciences*, 55(1), 81-89.
- Bell, L. N., Labuza, T. P. 2000. Moisture Sorption. Practical aspects of isotherm measurement and use. 2nd Edition. Ed. AACC. pp. 62.
- Bertuzzi, M. A., Castro Vidaurre, E. F., Armada, M., Gottifredi, J. C., 2007. Water vapor permeability of edible starch based films. *Journal of food engineering*, 80(3), 972-978.
- Bizot R., Jowitt F., Escher B., Hallstrom H.F.T., Meffert W.E.L., Spiess G. Vos (Eds.). Using the GAB model to construct sorption isotherms. *Physical properties of foods*, Applied Science Publishers, London (1984), pp. 27-41
- Brunauer S., Deming L.S., Teller E. 1940. On a theory of van der Waals adsorption of gases.
- Brunauer, S., Emmett, P. H., Teller, E. 1938. Adsorption of gases in multimolecular layers. *Journal of the American Chemical Society*, 60(2), 309-319.

- Castro, R.A., González Blair, G.H., 2010. Evaluación fisicoquímica de la efectividad de un recubrimiento comestible en la conservación de uchuva (*Physalis peruviana* L. var. Colombia) Revista de la asociación colombiana de ciencia y tecnología de alimentos. Alimentos Hoy 19(21). ISSN 2027-291X.
- Cervenka, L.; Rezkova, S; Kralovsky, J. Moisture adsorption characteristics of gingerbread, a traditional bakery product in Pardubice, Czech Republic. Journal of Food Engineering, v.84, n.4, p.601-607, 2008. Disponible on line.
- Cho, S. Y., Rhee, C., 2002. Sorption characteristics of soy protein films and their relation to mechanical properties. LWT-Food Science and Technology, 35(2), 151-157.
- Coupland, J. N., Shaw, N. B., Monahan, F. J., Dolores O'Riordan, E., O'Sullivan, M., 2000. Modeling the effect of glycerol on the moisture sorption behavior of whey protein edible films. Journal of Food Engineering, 43(1), 25-30.
- Coussement, P. A. 1999. Inulin and oligofructose: safe intakes and legal status. The Journal of nutrition, 129(7), 1412S-1417S.
- Cuq, B., Gontard, N., Cuq, J. L., Guilbert, S. 1996. Functional properties of myofibrillar protein based biopackaging as affected by film thickness. Journal of food science, 61(3), 580-584.
- Djendoubi Mrad, N., Bonazzi, C., Courtois, F., Kechaou, N., Boudhrioua Mihoubi, N. 2013. Moisture desorption isotherms and glass transition temperatures of osmo-dehydrated apple and pear. Food and Bioproducts Processing, 91(2), 121-128.
- Echeverría, I., Eisenberg, P., Mauri, A. N. 2014. Nanocomposites films based on soy proteins and montmorillonite processed by casting. Journal of Membrane Science, 449, 15e26.
- García, F. P., Martínez, A. J. G., Méndez, J. P., Aldapa, C. A. G., Gutiérrez, A. D. R. 2006. Evaluación de las isothermas de sorción en cereales para desayuno. Superficies y vacío, 19(1), 12-19.
- García, S. V., Schmalko, M. E., Tanzariello, A. 2007. Isothermas de adsorción y cinética de secado de ciertas hortalizas y aromáticas cultivadas en misiones. Revista de Investigaciones agropecuarias, 36(1), 115-129.
- Genta, S., Cabrera, W., Habib, N., Pons, J., Manrique Carillo, I., Grau, A. 2009. Yacon syrup: beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans. Clinical Nutrition, 28, 182e187.
- Gibson, G. R., Roberfroid, M. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introduction the concept of prebiotics. American Journal of Nutrition, 125(6), 1401-1412.
- Gibson, G. R., Probert, H. M., Loo, J. V., Rastall, R. A., Roberfroid, M. 2004. Dietary J. Food Engineering, 32, 47-68.
- Krochta, J.M., De Mulder-Jhonston, C. 1997. Edible films and coatings: a review. Food Technology, 51, 60-74. Journal of the American Chemical Society 62, 1723-1732.
- Lewicki P.P. 1997. Water sorption isotherms and their estimation in food model mechanical mixtures. Journal of Food Engineering, 32(1), 47-68.
- Márquez, R., Escobar, D., Sala, A., Silvera, C. 2011. Elaboración, caracterización y comparación de películas comestibles en base a aislado de proteínas de suero lácteo (WPI). INNOTECH, (3), 57-62.
- McHugh, T. H., Krochta, J. M. 1994. Sorbitol-versus glycerol plasticized whey protein edible films: Integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 42: 841-845.
- Miller, K. S., Krochta, J. M. 1997. Oxygen and aroma barrier properties of edible films: A review. Trends in Food Science and Technology, 8(7), 228-237.
- Niness, K. Inulin and oligofructose What are they? 1999 J. Nutr, 129, 1402-1406.

Ojansivu, I., Ferreira, C. L., Salminen, S. 2011. Yacon, a new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use. *Trends in Food Science & Technology*, 22(1), 40-46.

Oses, J., Fernandez-Pan, I., Mendoza, M., Maté, J. I., 2009. Stability of the mechanical properties of edible films based on whey protein isolate during storage at different relative humidity. *Food Hydrocolloids*, 23(1), 125-131.

Pedreschi, R., Campos, D., Noratto, G., Chirinos, R., Cisneros-Zevallos, L. 2003. Andean yacon root (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. Endl) fructooligosaccharides as a potential novel source of prebiotics. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(18), 5278-5284.

Pereda, M., Amica, G., Marcovich, N. E. 2012. Development and characterization of edible chitosan/olive oil emulsion films. *Carbohydrate Polymers*, 87, 1318-1325.

Potus, J., Dracon, R., and Bakotozafy, L. 1991. *Industries des céréales*, 79, 13.

Quirijns, E. J., van Boxtel, A. J. B., van Loon, W. K. P., van Straten, G. 2005. Sorption isotherms, GAB parameters and isosteric heat of sorption. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(11), 1805-1814.

Roberfroid, M.B., 1999. Caloric value of inulin and oligofructose. *J. Nutr.* 129, 1436S-1437S.

Schaller, A. 2009. Sueros de lechería. Dirección Nacional de Agroindustria, Alimentos.
http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/revista/ediciones/44/cadenas/r44_06_SueroLacteo.pdf

Vinderola G. 2008. Dried cell-free fraction of fermented milks: new functional additives for the food industry. *Trends in Food Science and Technology* 19: 40-46.

Yoshida, C. M. P., Antunes, A. C. B., Antunes, A. J. 2002. Moisture adsorption by milk whey protein films. *International Journal of Food Science & Technology*, 37(3), 329-332.

CAPACIDAD EMULSIFICANTE DE PECTINAS DE CALABAZA Y DE REMOLACHA

Fissore E.N.^{1,2}, Rojas A.M.¹, Gerschenson L.N.¹, Williams P.A.²

1: Departamento de Industrias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina

2: Centre for Water Soluble Polymers, Research Centre for Materials, Engineering and Manufacturing, Glyndŵr University, Gales, Reino Unido.

eliana@di.fcen.uba.ar

Resumen: Las pectinas han sido utilizadas ampliamente como agentes espesantes, gelificantes y estabilizantes de emulsiones. En este trabajo se utilizaron fracciones enriquecidas en pectina aisladas mediante digestión con celulasa, a partir de tejido de calabaza y remolacha. Se evaluó la estabilidad de emulsiones conteniendo 10 % (m/m) de aceite y 0,5 - 5,0 % (m/m) de una fracción enriquecida en pectina, como emulsificante; preparadas con 1 - 5 min de agitación. Se determinaron la concentración óptima de emulsificante a utilizar y el tiempo óptimo de emulsificación. Los ensayos se realizaron estudiando el tamaño de gota mediante dispersión dinámica de luz y análisis de imágenes. Para determinar los componentes activos de las fracciones aisladas se utilizó la cromatografía de permeación en gel (GPC) con detectores de índice de refracción y ultravioleta. La concentración óptima de pectina fue de 2 % (m/m) para calabaza y 4 % (m/m) para remolacha y se determinó un tiempo óptimo de emulsificación de 3 min para ambas muestras. Las emulsiones

mostraron un pequeño incremento del tamaño de gota durante los 30 días de ensayo de estabilidad. El análisis de imágenes mostró que dicho incremento se debió principalmente a la floculación de las gotas.

Palabras clave: pectina, remolacha, calabaza, capacidad emulsificante

Abstract: Pectins play an important role in food technology and has been widely used as a thickening and gelling agents and emulsion stabilizers. In this research pectin enriched fractions isolated by digestion with cellulase from butternut and beetroot tissues were used. Stability of emulsions containing 10 % (w/w) of oil and 0.5 -5.0 % (w/w) of a pectin-enriched fraction were prepared with 1 - 5 min of stirring. The optimal concentration of fraction and the optimal time of emulsification were determined. Assays were performed by studying the drop size by dynamic light scattering and image analysis. Gel permeation chromatography (GPC) with refractive index and ultraviolet detectors were used to determine the active ingredients of the isolated fractions. The optimum pectin concentration was 2 % (w/w) for butternut and 4 % (w/w) for beetroot and it was determined an optimal emulsification time of 3 min for both samples. The emulsions showed only a small increase in droplet size during the 30-day assay. Image analysis showed that this increase was mainly due to flocculation of the droplets.

Keywords: pectin, beetroot, butternut, emulsification

INTRODUCCIÓN

Las pectinas son polisacáridos complejos presentes en las paredes celulares de las plantas. Generalmente se extraen de éstas por métodos químicos y/o enzimáticos bajo diferentes condiciones de extracción (Yapo *et al.* 2007).

En una dieta occidental típica, se consumen alrededor de 4 – 5 g de pectina por día (Willats *et al.* 2006). Savary *et al.* (2003) reportaron un consumo anual de pectina de aproximadamente 45000 tn a nivel mundial. Tradicionalmente, se utiliza como agente gelante para mermeladas y jaleas. Otras aplicaciones son para la elaboración de productos de confitería, productos lácteos, preparaciones de frutas, rellenos de repostería, glaseados y para el reemplazo de grasas (Nielsen 1996). Las principales fuentes de pectina comercial son los residuos de la extracción de jugos y aceites de cítricos (limón, lima, naranja y pomelo) y el residuo seco que queda de la extracción de jugo de manzana (Endreß 2009, Levigne *et al.* 2002). Otras fuentes de pectina potencialmente valiosas no se utilizan debido a que presentan ciertas propiedades estructurales indeseables (Willats *et al.* 2006). A nivel industrial, la pectina se extrae tratando al material vegetal con ácido mineral diluido en caliente a pH ~ 2. El tiempo preciso de extracción varía de acuerdo al tipo de pectina deseable y de un fabricante a otro (Endreß 2009, May 1990). El uso de ácidos minerales fuertes como el ácido sulfúrico y el ácido clorhídrico puede ser dañino para el medioambiente y requiere de pasos adicionales para remover los elementos tóxicos (Yapo 2009). Por lo tanto, los investigadores han propuesto procesos alternativos para minimizar el uso de

químicos perjudiciales durante la extracción de pectina, incluyendo tratamientos térmicos, mecánicos, ultrasonido, extrusión y extracción con agua subcrítica. Otra alternativa es el uso de enzimas que degradan la pared celular como celulasa, hemicelulasa, proteasa y otras enzimas microbianas (Lim *et al.* 2012).

Los polisacáridos pécticos están constituidos, mayoritariamente, por polímeros ricos en ácido galacturónico (GalA) y otros monosacáridos (Vincken *et al.* 2003). De acuerdo al grado de metilación (DM), que es la proporción de grupos carboxilo presentes en forma esterificada, las pectinas con DM menor a 50 % se consideran "pectinas de bajo metoxilo", mientras que aquellas con DM igual o mayor que 50 % se consideran "pectinas de alto metoxilo". La formación de geles con pectinas de alto DM requiere condiciones de bajo pH (~ 3) y alto contenido de azúcar (~ 65 %). Por otro lado, las pectinas de bajo DM pueden formar geles en presencia de calcio en un amplio rango de pH con o sin azúcar (Fu y Rao 2001).

Se ha establecido que las pectinas presentan capacidad emulsificante (Williams *et al.* 2005, Leroux *et al.* 2003). No hay una explicación clara sobre el origen de dicha capacidad aunque muchos autores la atribuyen a la porción proteica del material (Funami *et al.* 2007, Leroux *et al.* 2003). La forma de actuar sugerida para la pectina se basa en que el componente proteico hidrofóbico genera la actividad superficial de la pectina emulsificante y actúa como su punto fuerte de anclaje en la interfase aceite – agua, mientras que las cadenas de polisacárido hidrofílico proveen una capa protectora gruesa que confiere estabilización estérica efectiva durante almacenamientos prolongados (Akhtar *et al.* 2002).

Grandes cantidades de desechos del procesamiento de frutas y vegetales se producen en plantas de envasado, enlatado, operaciones de congelado y secado, etc., las que generalmente derivan de procesos tales como lavado, pelado, escaldado, transporte, lavado de instrumental y esterilización. Estos desechos están constituidos mayoritariamente por almidones y pectinas (Kroyer 1995). Más aún, la industria de alimentos, respondiendo a las necesidades del consumidor, ha generado los productos denominados de "cuarta gama", esto es, hortalizas y verduras frescas, limpias, trozadas, lavadas, envasadas y listas para cocinar o para consumirlas directamente, por ejemplo en ensaladas. En este tipo de proceso se generan grandes cantidades de residuos. Del mismo modo, el no cumplimiento de los estándares de calidad de parte de la producción, también contribuye a aumentar los residuos vegetales disponibles. En Argentina, el zapallo tipo butternut, calabacita criolla o calabaza (*Cucurbita moschata* Duch ex Poiret) es un vegetal muy consumido. Se cultiva para su uso como vegetal y además como medicina en muchos países como Corea, China, Argentina, India, Méjico, Brasil y Estados Unidos (Caili *et al.* 2006, Jun *et al.* 2006). La remolacha roja (*Beta vulgaris* L. var. *conditiva*) se utiliza mayormente para ensaladas o purés y también para extraer un pigmento natural que le confiere su color rojo (Nayak *et al.* 2006). Los subproductos de su industrialización se utilizan ya sea para alimento de animales o se disponen como desechos industriales. La calabaza y la remolacha roja son fuentes no convencionales que podrían ser explotadas para la producción de pectina (Fissore *et al.* 2011, Fissore *et al.* 2007) permitiendo así, transformar los desechos de la industrialización de vegetales en productos con valor agregado, como son las fibras, contribuyendo a disminuir la polución (Laufenberg *et al.* 2003).

El objetivo de este trabajo fue el estudio de las propiedades emulsificantes de productos enriquecidos en pectinas aisladas a partir de residuos de calabaza (*Cucurbita moschata* Duch) y de remolacha (*Beta vulgaris* var *conditiva*).

MATERIALES Y MÉTODOS

Fracciones enriquecidas en pectina

Se utilizaron dos fracciones enriquecidas en pectina, una aislada a partir de remolacha roja (*Beta vulgaris* L. var. *conditiva*) y otra aislada a partir de calabaza (*Cucurbita moschata* Duch. ex Poiret). Ambas fracciones fueron aisladas mediante tratamiento (30 °C, 20 hs) con la enzima celulasa en buffer citrato de sodio pH 5,2 de acuerdo a Fissore *et al.* (2011) y Fissore *et al.* (2007).

Tensión Superficial

La tensión superficial de soluciones acuosas conteniendo 1 % (m/m) de fracción pectínica se midió utilizando un tensiómetro Profile Analysis Tensiometer PAT-1 (SINTERFACE Technologies, Alemania) en función del tiempo, hasta alcanzar un plateau. Previo a cada medición, se realizó la calibración del instrumento con agua deionizada. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

Preparación de la Emulsiones

Las soluciones de pectina se prepararon agitando las fracciones enriquecidas en pectina con agua y calentando suavemente a 65

°C para asegurar la disolución completa. Una alícuota de 16 g de solución de pectina a distintas concentraciones (0,5 – 5 %, m/m) se agregaron a 4 g de aceite MCT (triglicéridos de cadena media). Las mezclas se sometieron a agitación durante 30 seg, inmediatamente después se homogenizaron por 1 - 5 min utilizando un homogenizador Ultra Turrax T25 Basic S2 a una velocidad de 24000 rpm y se determinó el tiempo óptimo de emulsificación.

Tamaño de gota

El tamaño de gota se midió por triplicado, utilizando un analizador de tamaño de partícula Malvern Mastersizer 2000 (Malvern, Reino Unido). La distribución de tamaño de partículas se obtiene mediante difracción láser. Antes de medir el tamaño de partícula, unas cuantas gotas de emulsión se agregaron al agua bidestilada en la unidad de dispersión del instrumento y se dispersaron a una velocidad de 2000 rpm hasta que la obscuración fue $\approx 15\%$.

Estabilidad de las emulsiones

Se realizaron mediciones para determinar el efecto de la concentración de pectina en la distribución y estabilidad del tamaño de gota. Las emulsiones se almacenaron a temperatura ambiente y el tamaño de gota se midió a distintos tiempos durante un período de 30 días.

Adicionalmente, la estabilidad de las emulsiones en el tiempo se estudió por análisis de imágenes utilizando un Analizador de Imágenes de Flujo de Partículas FPIA (Flow Particle Image

Analyzer) Sysmex 3000 (Sysmex Corporation, Japón). Los experimentos se realizaron por triplicado.

Componentes de las fracciones de pectina con actividad superficial

La adsorción de las pectinas de calabaza y de remolacha sobre las gotas de aceite se investigó midiendo el perfil de masa molecular de la pectina antes y después del proceso de emulsificación. Para ello se prepararon soluciones 0,1 % (m/m) con cada fracción de pectina, calentando suavemente en agua (65 °C). Luego se prepararon emulsiones al 20 % (m/m) de aceite MCT, mezclando con un homogenizador Ultraturax T25 Basic S2 a una velocidad de 24000 rpm durante 3 min. Las emulsiones fueron luego centrifugadas a 1000 x g por ≈ 24 h hasta la separación completa de las fases acuosa y oleosa. La fase acuosa fue cuidadosamente separada con una jeringa.

La distribución de masa molecular de las soluciones de pectina, previa a la emulsificación, y de la fase acuosa obtenida luego de centrifugar las emulsiones, se evaluó por cromatografía de permeación en gel, con detectores de dispersión de luz láser a múltiples ángulos e índice de refracción (GPC – MALLS – IR). La presencia de pectina adsorbida en las gotas de aceite, se evaluó a partir del cambio en la intensidad del índice de refracción del perfil de elución, antes y después de la emulsificación. Los ensayos se realizaron por duplicado.

Análisis estadístico

Los ajustes no lineales se realizaron utilizando el utilitario Prism 5 (Statistical Software para Windows; GraphPad, EE.UU.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente trabajo se utilizaron fracciones enriquecidas en pectina aisladas mediante digestión con la enzima celulasa, a partir de tejido de calabaza y remolacha. La fracción aislada a partir de calabaza contiene 55 % de ácido galacturónico y 7,5 % de proteína. La fracción aislada de remolacha contiene 54 % de ácido galacturónico y 6 % de proteína (Fissore *et al.* 2011, Fissore *et al.* 2007).

Tensión Superficial

La tensión superficial (ST) de las soluciones acuosas al 1 % de fracción enriquecida en pectina fue de 60,4 mN/m para la fracción aislada a partir de calabaza y 54,4 mN/m para la fracción aislada a partir de remolacha. Se puede observar que ambas fracciones poseen actividad superficial.

Concentración óptima de pectina

Se prepararon emulsiones al 10 % (m/m) de aceite MCT en agua utilizando distintas concentraciones de pectina (0,5 – 5 %, m/m). El tamaño de gota de cada emulsión se midió 1h después de preparadas. Como se observa en la **Figura 1**, el tamaño de gota disminuyó con el aumento de la concentración de carbohidrato hasta un valor óptimo indicando la cobertura completa de las gotas de aceite con las moléculas de polímero (Siew y Williams 2008). El menor tamaño de gota ($d_{[3,2]}$) se obtuvo con una concentración de pectina del 2 % (m/m) para calabaza y del 4 %

(m/m) para remolacha. Dichas concentraciones fueron elegidas para realizar los experimentos posteriores.

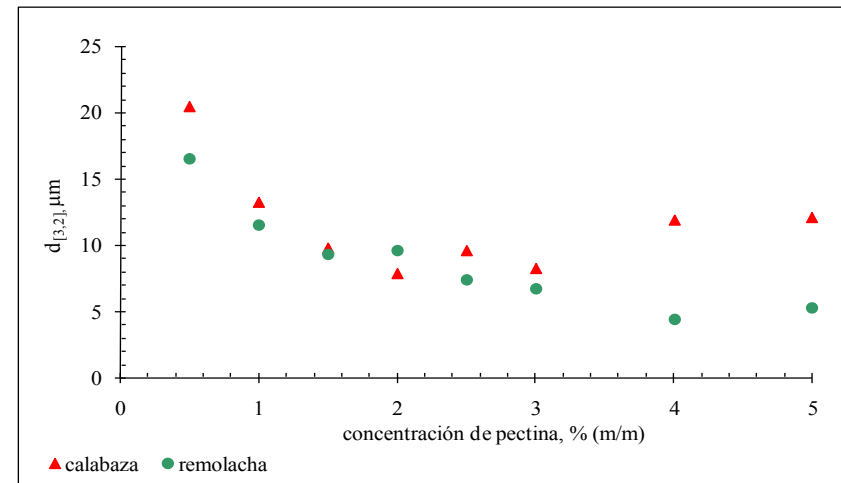


Figura 1: Efecto de la concentración de pectina en el tamaño de gota de la emulsión.

Tiempo óptimo de emulsificación

Se prepararon emulsiones al 10 % (m/m) de aceite MCT con la concentración óptima de pectina. Se ensayaron distintos tiempos de emulsificación (1 – 5 min) con el fin de encontrar el tiempo óptimo de emulsificación. Como se observa en la **Figura 2**, para ambas fracciones de pectina, el tiempo óptimo de emulsificación fue de 3 min.

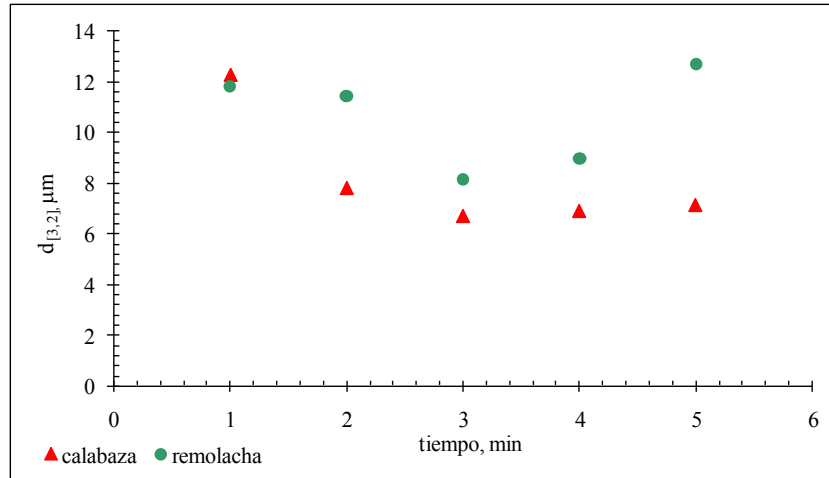


Figura 2: Efecto del tiempo de emulsificación en el tamaño de gota de la emulsión.

Estabilidad de la emulsión

Se prepararon emulsiones al 10 % (m/m) de aceite MCT con las concentraciones óptimas de pectina y el tiempo óptimo de emulsificación y su tamaño de gota se estudió en función del tiempo durante un período de 30 días almacenando a 25 °C. En la **Figura 3** se observan los resultados. Durante los primeros 10 días, la emulsión con pectina de remolacha presentó un tamaño de gota menor en comparación con la emulsión de pectina de calabaza. Ambas emulsiones mostraron un pequeño incremento de tamaño de gota tras 30 días de almacenamiento y el tamaño de gota fue prácticamente el mismo para ambas emulsiones luego de 10 días de almacenamiento ($p < 0,05$; $n = 3$).

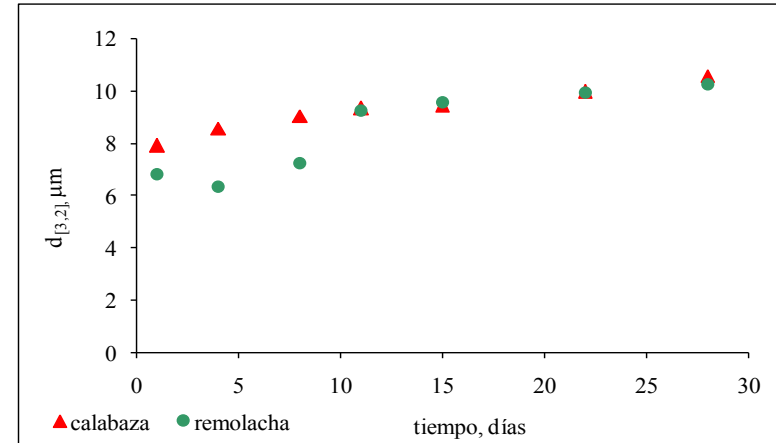


Figura 3: Efecto de la pectina en la estabilidad de emulsiones a 25 °C.

Las imágenes obtenidas por FPIA para las emulsiones a tiempo = 1 día y tiempo = 30 días se muestran en la **Figura 4**. Se puede observar que el incremento en el tamaño de gota es principalmente debido a la floculación de las gotas aunque también hay cierta evidencia de coalescencia de gotas.

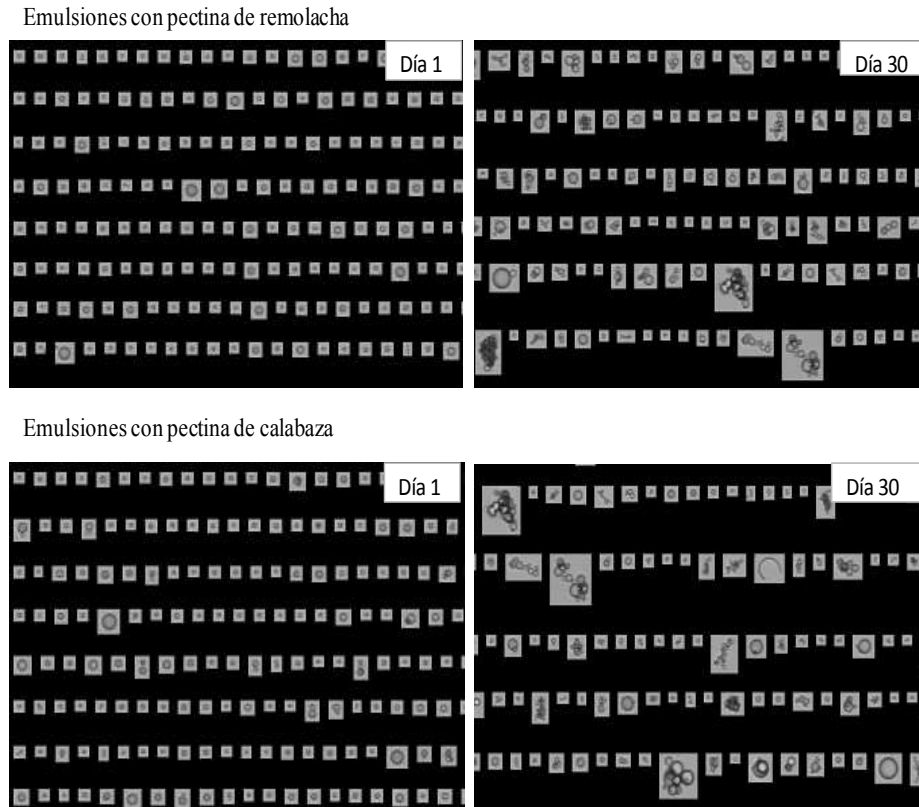


Figura 4: Evaluación del tamaño de gota de las emulsiones por análisis de imagen de flujo de partícula.

Componentes de las fracciones de pectina con actividad superficial

La adsorción de las fracciones aisladas de calabaza y remolacha en las gotas de aceite se estudió midiendo el perfil de masa molar de la fracción antes y después del proceso de emulsificación.

En la **Figura 5** se presentan los cromatogramas GPC - IR para las muestras de remolacha y calabaza, antes y después de emulsificar con 20 % de aceite MCT. La intensidad de la señal IR es proporcional a la concentración de soluto (polímero) presente y, por lo tanto, a partir del cambio en las señales IR se puede observar si quedó pectina adsorbida en las gotas de aceite tras romper la emulsión. Cuando la intensidad de la señal luego de la emulsificación se reduce, se debe a la adsorción de algunos componentes de la fracción en las gotas de aceite durante la emulsificación.

Para la pectina de remolacha parece haber una pequeña cantidad de material adsorbido y sería fundamentalmente la fracción de alto peso molecular que eluye entre 25 y 35 mL y ciertos componentes de menor masa que eluyen a 40 mL. Para la fracción pectínica aislada a partir de calabaza, se observa que se adsorbe material de alta masa molecular que eluye entre 25 y 35 mL pero también se adsorbe una significativa cantidad de material de menor masa molecular que eluye a 40 mL y 43 mL. La diferencia entre picos que se observa antes y después de emulsificar por encima de 40 mL puede atribuirse a que, tras romper la emulsión, sólo quedó parte del polisacárido inicial en la fase acuosa o a un residual de proteínas de masa molecular intermedia que no se adsorbió en la interfase. Estas fracciones son ricas en proteína y los resultados están en concordancia con

las propiedades de emulsificación reportadas para remolacha azucarera cuyas fracciones ricas en proteína y ácido ferúlico se adsorben en la interfase aceite-agua (Siew y Williams 2008).

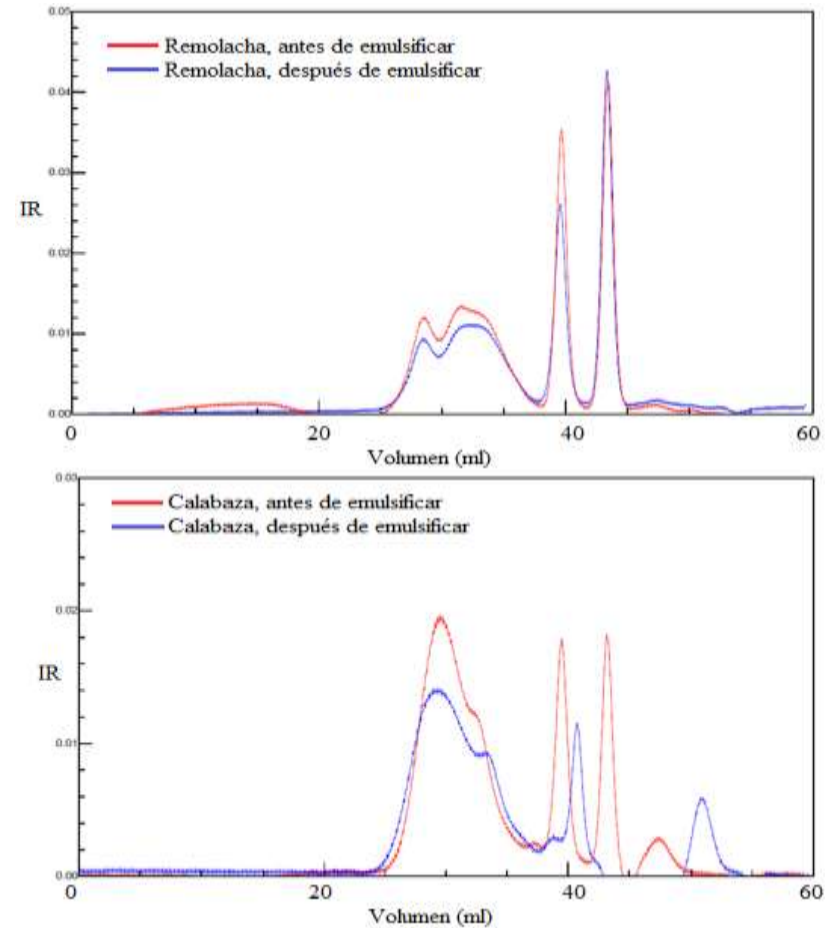


Figura 5: Adsorción preferencial de las fracciones enriquecidas en pectina de remolacha y calabaza antes y después de la emulsificación evaluada a través de cromatografía de permeación en gel con detector IR.

CONCLUSIONES

La concentración óptima de pectina para preparar emulsiones al 10 % de aceite fue de 2 % (m/m) para calabaza y 4 % (m/m) para remolacha.

Se determinó un tiempo óptimo de emulsificación de 3 min para ambas fracciones enriquecidas en pectina. Las emulsiones mostraron un pequeño incremento del tamaño de gota durante los 30 días de ensayo.

Los resultados obtenidos confirman que los productos enriquecidos en pectina aislados de residuos de calabaza y remolacha poseen capacidad emulsificante y podrían ser útiles para su uso como aditivos en la industria alimentaria.

BIBLIOGRAFÍA

Akhtar M, Dickinson E, Mazoyer J, Langendorff V. 2002. Emulsion stabilizing properties of depolymerized pectin. *Food Hydrocolloids*, 16: 249 – 256.

Caili F, Huan S, Quanhong L. 2006. A review on pharmacological activities and utilization technologies of pumpkin. *Plant Foods for Human Nutrition*, 61: 73 - 80.

Endreß HU. 2009. Pectins. En: Phillips GO y Williams PA, editores. *Handbook of Hydrocolloids*. 2º ed. Cambridge: CRC Press, Woodhead Publishing Limited. pag 274 - 297.

Fissore E, Ponce N, Matkovic L, Stortz C, Rojas AM, Gerschenson L. 2011. Isolation of pectin enriched products from red beet (*Beta vulgaris* L. var. *conditiva*) wastes: composition and functional properties. *Food Science and Technology International*, 17: 517 - 527.

Fissore EN, Ponce NM, Stortz CA, Rojas AM, Gerschenson LN. 2007. Characterization of fibre obtained from pumpkin (*Cucumis moschata* Duch) mesocarp through enzymatic treatment. *Food Science and Technology International*, 16: 1 - 7.

Fu JT, Rao MA. 2001. Rheology and structure development during gelation of low-methoxyl pectin gels: the effect of sucrose. *Food Hydrocolloids*, 15: 93 - 100.

Funami T, Zhang G, Hiroe M, Noda S, Nakauma M, Asai I, Cowman MK, Al-Assaf S, Phillips GO. 2007. Effects of the proteinaceous moiety on the emulsifying properties of sugar beet pectin. *Food Hydrocolloids*, 21: 1319 - 1329.

Jun H-I, Lee C-H, Song G-S, Kimet Y-S. 2006. Characterization of the pectic polysaccharides from pumpkin peel. *LWT - Food Science and Technology*, 39: 554 - 561.

Kroyer GT. 1995. Impact of Food Processing on the Environment – an Overview. *LWT - Food Science and Technology*, 28: 547 - 552.

Laufenberg G, Kunz B, Nystroem . 2003. Transformation of vegetable waste into value added products: (A) the upgrading concept; (B) practical implementations. *Bioresource Technology*, 87: 167 - 198.

Leroux J, Langendorff V, Schick G, Vaishnav V, Mazoyer J. 2003. Emulsion stabilizing properties of pectin. *Food Hydrocolloids*, 17: 455 - 462.

Levigne S, Ralet MC, Thibault JF. 2002. Characterisation of pectins extracted from fresh sugar beet under different conditions using an experimental design. *Carbohydrate Polymers*, 49: 145 - 153.

Lim J, Yoo J, Ko S, Lee S. 2012. Extraction and characterization of pectin from Yuza (*Citrus junos*) pomace: A comparison of conventional-chemical and combined physical-enzymatic extractions. *Food Hydrocolloids* 29: 160 - 165.

May CD. 1990. Industrial pectins: Sources, production and applications. *Carbohydrate Polymers*, 12: 79 - 99.

Nayak CA, Chetana S, Rastogi NK, Raghavarao KSMS. 2006. Enhanced mass transfer during solid-liquid extraction of gamma-irradiated red beetroot. *Radiation Physics and Chemistry*, 75: 173 - 178.

Nielsen BU. 1996. Fiber-Based Fat Mimetics: Pectin. En: Roller S y Jones SA, editors. *Handbook of Fat Replacers*. Cambridge: CRC Press, Taylor & Francis. pag 161 - 174

Savary BJ, Hotchkiss AT, Fishman ML, Cameron RG and Shatters R. 2003. Development of a Valencia orange pectin methyl esterase for generating novel pectin products. En: Voragen F, Schols H y Visser R, editors. *Advances in pectin and pectinase research*. The Netherland: Kluwer Academic Publishers, 345 - 361.

Siew C, Williams P. 2008. Role of protein and ferulic acid in the emulsification properties of sugar beet pectin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 4164 - 4171.

PROPIEDADES MECÁNICAS Y REOLÓGICAS DE POSTRES LÁCTEOS ENRIQUECIDOS CON FIBRA DIETARIA DE MANZANA

Freije M. M.¹, Dello Staffolo M.², Pérez E.¹, Genovese D.¹

1: PLAPIQUI (UNS-CONICET), Bahía Blanca, Argentina.
2: CONICET-CCT La Plata, Fac. de Ingeniería, UNLP, La Plata, Argentina.
mfreije@plapiqui.edu.ar

Resumen: El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto del agregado de fibra de manzana sobre las propiedades reológicas y mecánicas (textura) de postres lácteos de vainilla comerciales. Se estudiaron postres con tres concentraciones de fibra: 0% (Control), 1,3%, y 3% p/v. Las propiedades viscoelásticas (módulos elástico, G' , y viscoso, G'') de estas 3 muestras se determinaron mediante ensayos dinámicos oscilatorios dentro del rango viscoelástico lineal. Para la determinación de las propiedades mecánicas se aplicó el análisis de perfil de textura (TPA), que consiste en dos ciclos de compresión de la muestra al 50%. La distribución de tamaños de partícula de la fibra de manzana se determinó mediante difracción laser, por duplicado. El agregado de fibras de manzana a postres lácteos no presentó efectos significativos en las propiedades reológicas pero sí en algunas propiedades mecánicas como dureza, resortividad y gomosidad.

Palabras clave: Postres lácteos, fibra de manzana, reología, textura.

Abstract: The objective of this work was to determine the effect of apple fibre addition on the rheological and mechanical (textural) properties of commercial vanilla dairy desserts. Desserts with three different fibre concentrations were studied: 0% (Control), 1,3%, and 3% w/v. Viscoelastic properties (elastic modulus G' and viscous modulus G'') of these three samples were determined by dynamic oscillatory tests within the linear viscoelastic range. Mechanical properties were determined by means of the texture profile analysis (TPA), which consists in two cycles of sample compression at 50%. Particle size distribution of apple fibre was determined by laser diffraction, by duplicate. Apple fibre addition to dairy desserts did not have a significant effect on the rheological properties, but it did have a significant effect on some mechanical properties as hardness, resortivity and gomosity.

Keywords: Dairy desserts, apple fibre, rheology, texture.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años la demanda de productos alimenticios con mayor calidad nutricional y beneficios adicionales para la salud ha crecido. Esto ha conducido a la incorporación de compuestos bioactivos en productos alimenticios, que pueden impartir beneficios para la salud si se consumen de manera regular. Los productos así obtenidos se denominan alimentos funcionales. Un tipo de ingrediente bioactivo que ha recibido una creciente atención por parte de los investigadores y la industria son las fibras dietarias. Sus beneficios fisiológicos incluyen el efecto laxante, y/o atenuación de colesterol en la sangre, y/o atenuación de glucosa en sangre.

Las fibras dietéticas se ingieren a partir de cereales, frutas y verduras, pero ahora también se agregan en forma purificada a preparaciones alimenticias, ya que los papeles de fibras dietéticas en la prevención y el tratamiento de algunas enfermedades han sido bien documentados. La adición de fibras dietéticas a los alimentos confiere diferentes tipos de beneficios. Los más destacados son incrementar el valor nutricional del alimento, y motivar o inducir a los consumidores a ingerir mayores cantidades de fibra dietética. Además, promueve el aprovechamiento de productos y subproductos agroalimentarios para la elaboración de fibra (Dello Staffolo 2012). Por estos motivos, las fibras son de gran interés para los fabricantes de alimentos. En consecuencia, tanto el valor nutricional y las propiedades tecnológicas de fibras dietéticas son importantes en el desarrollo potencial de una amplia gama de alimentos enriquecidos con fibra de, por ejemplo: productos de panadería, bocadillos, salsas, bebidas, cereales, galletas, productos lácteos,

productos cárnicos. El objetivo de este trabajo entonces, fue determinar las propiedades reológicas y mecánicas de postres lácteos enriquecidos con fibra dietaria de manzana, y determinar si existen diferencias significativas entre ellos y el postre comercial (0% p/v de fibra), estableciendo una comparación similar a la que experimentaría un consumidor.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para llevar a cabo las experiencias se utilizó una fórmula comercial de postre de vainilla en polvo Exquisita, leche en polvo entera La Serenísima, agua destilada y fibra de manzana Vitacel AF 400/30 (Nutrition Specialties S.A.). Primeramente se disolvió la leche en polvo en agua mediante un agitador magnético a bajas rpm durante 15 minutos. A ello se le agregó el postre comercial en polvo según la proporción indicada en el paquete, añadiéndole al mismo las cantidades de fibra de manzana necesarias para que su concentración resulte de 0%, 1,3% y 3% p/v. Luego se mezclaron todos los ingredientes hasta que no se observaran grumos y esta mezcla fue calentada en un baño termostático durante 20 minutos a 85 °C. Al finalizar el calentamiento, una pequeña cantidad de postre fue colocada en un reómetro Paar Physica MCR 301 (Anton Paar GmbH, Austria) en una geometría de cono y plato (diámetro= 50 mm, ángulo= 1°) y el resto fue dispuesto en moldes de acrílico con base de papel film de 3,3 cm de diámetro y 3,3cm de alto, los cuales, una vez pasados 30 minutos se taparon con film y se colocaron en heladera hasta el día siguiente, para realizar las mediciones mecánicas en un texturómetro TA Plus (Lloyd Instruments, Inglaterra).

Las propiedades viscoelásticas (módulos elástico, G' , y viscoso, G'') de las 3 muestras (0%, 1,3% y 3% p/v de fibra) se determinaron mediante ensayos dinámicos oscilatorios dentro del rango viscoelástico lineal, en 3 pasos: 1) Gelificación por enfriamiento (desde 80 a 20 °C); 2) Curado del gel (en condiciones constantes durante 29 min); y 3) Espectro mecánico (barrido de frecuencia angular ω). Las mediciones reológicas de cada muestra se realizaron por triplicado, utilizando un batch nuevo por cada medición. Para la determinación de las propiedades mecánicas se aplicó el análisis de perfil de textura (TPA), que consiste en dos ciclos de compresión de la muestra al 50%. De la curva fuerza-tiempo resultante se obtuvieron los siguientes parámetros: dureza, adhesividad, cohesividad, resortividad, y gomosidad. Se efectuaron 12 mediciones de textura por cada muestra (2 batches por muestra, 6 mediciones por batch). La distribución de tamaños de partícula de la fibra de manzana se determinó mediante difracción laser, por duplicado. Se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA) de los parámetros reológicos y mecánicos, y se realizaron comparaciones de las tres muestras mediante el test de Tukey, con un nivel de significación del 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La distribución de tamaños de las partículas de fibra tuvo un diámetro promedio de 30,8 micras, y un desvío estándar de 24,4 micras (**Figura 1**). Las curvas de G' y G'' no presentaron entrecruzamiento en ninguna de las muestras durante el enfriamiento (**Figura 2**), por lo cual no pudo determinarse una temperatura de gelificación por este método. El test de curado

del postre mostró un aumento de G' en el tiempo, indicando que en ese período se reforzó la estructura del gel (**Figura 3**). El espectro mecánico obtenido (**Figura 4**) mostró que los 3 postres presentaron una estructura de tipo gel. Los datos experimentales se ajustaron con la función potencial $G' = G_0' \omega^n$, donde G_0' equivale al valor predicho de G' para $\omega = 1$ rad/s, y n es la pendiente de la curva. No se encontró un efecto significativo del agregado de fibra de manzana en los valores de G_0' y n de los postres (**Tabla 1**). En cuanto a los parámetros de textura, se encontraron efectos significativos del contenido de fibra en la dureza de los postres ($3\%^b > \text{Control}^a > 1,3\%^a$), así como en la resortividad ($1,3\%^b > 3\%^{ab} > \text{Control}^a$), y en la gomosidad ($3\%^b > 1,3\%^{ab} > \text{Control}^a$) (**Tabla 2**). Por otra parte, no se encontraron efectos significativos del agregado de fibra en la adhesividad ni en la cohesividad de los postres.

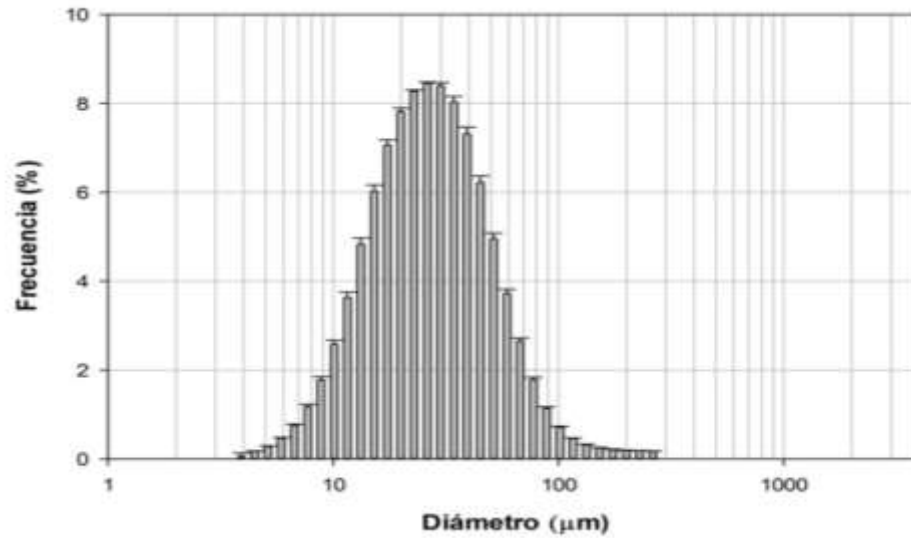


Figura 1: Distribución de tamaños de partículas de fibra de manzana.

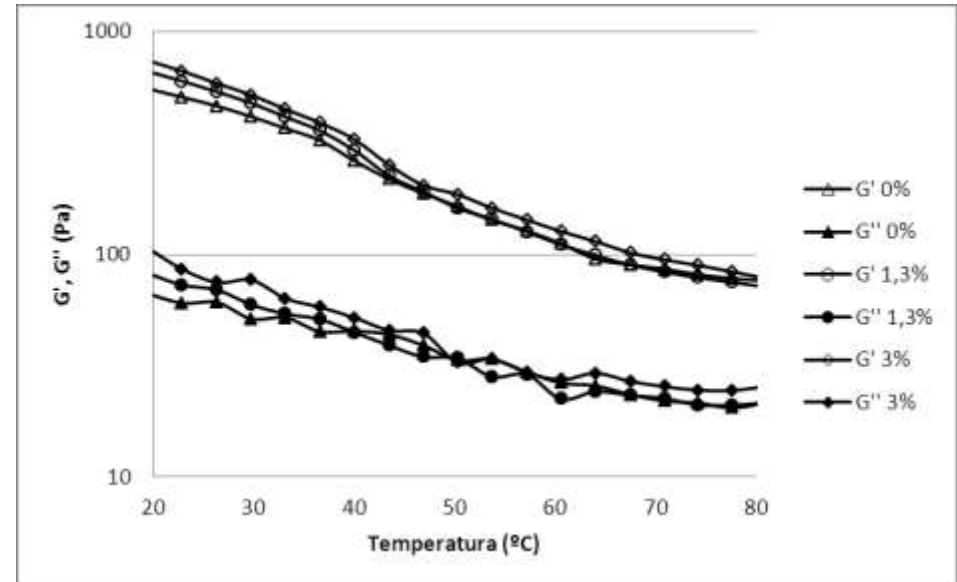


Figura 2: G' y G'' en función de la temperatura para postres con 0%, 1,3% y 3% p/v de fibra de manzana.

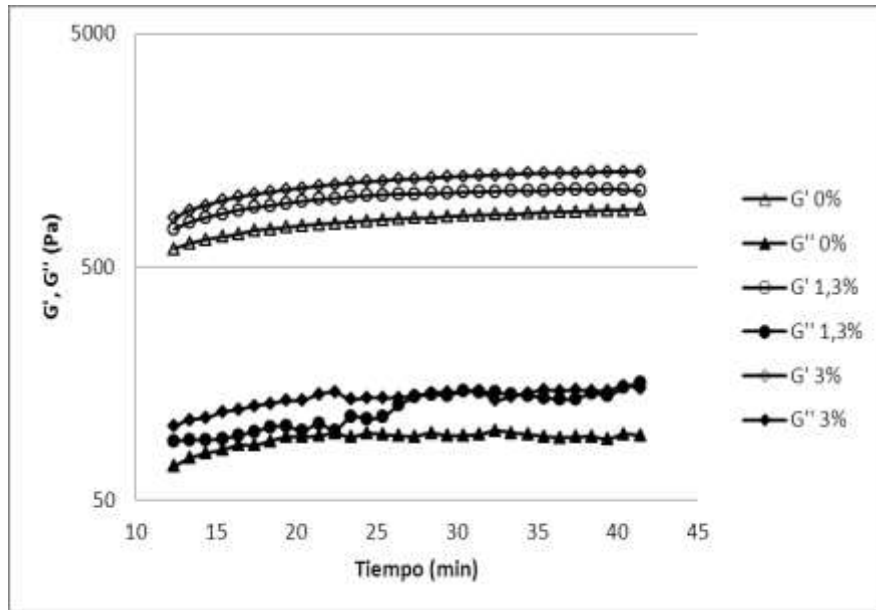


Figura 3: G' y G'' en función del tiempo para postres con 0%, 1,3% y 3% p/v de fibra de manzana.

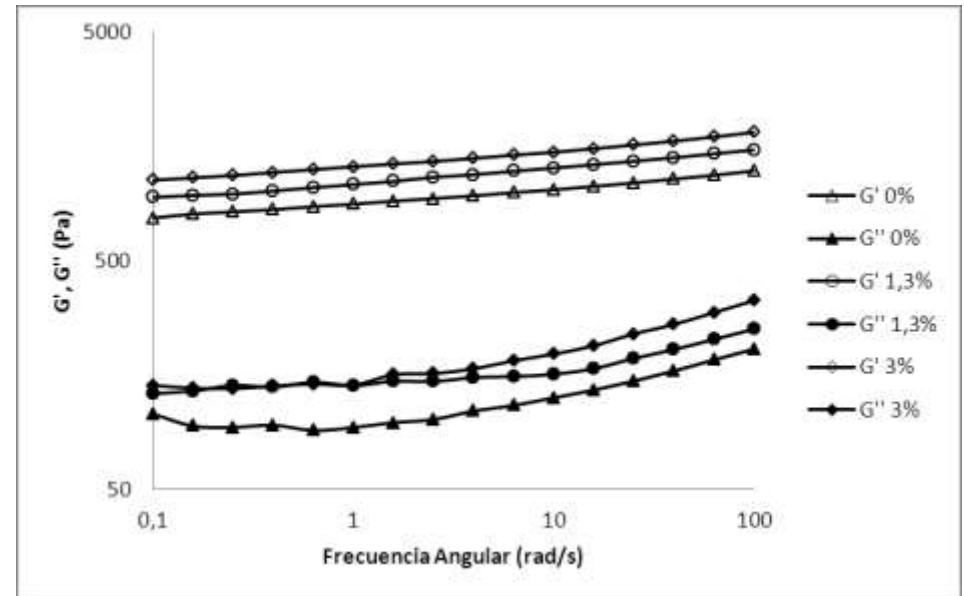


Figura 4: G' y G'' en función de la frecuencia angular para postres con 0%, 1,3% y 3% p/v de fibra de manzana.

Tabla 2: Comparación de medias pertenecientes a los parámetros G'_0 y n mediante el test de Tukey.

Muestra	Medias	
	G'_0 (Pa)	n
0%	891 ^a	0,0651 ^a
1,30%	1089 ^a	0,0724 ^a
3%	1297 ^a	0,0694 ^a

*Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla 3: Comparación de medias pertenecientes a los parámetros del TPA mediante el test de Tukey.

Muestra	Medias				
	Dureza (N)	Adhesividad (N mm)	Cohesividad	Resortividad (mm)	Go
0% Fibra	7,30 ^a	-1,93 ^a	0,49 ^a	11,79 ^a	3,5
1,3% Fibra	7,16 ^a	-1,32 ^a	0,55 ^a	12,87 ^b	3,8
3% Fibra	8,80 ^b	-1,76 ^a	0,50 ^a	12,82 ^{ab}	4,3

*Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

CONCLUSIÓN

El agregado de fibra de manzana a postres lácteos no presentó efectos significativos en las propiedades reológicas pero sí en algunas propiedades mecánicas como resortividad, dureza y gomosidad. En estas dos últimas propiedades se aprecia un aumento significativo cuando la concentración de fibra es de 3%, lo que sugiere que con esta cantidad de fibra se consigue un postre más "firme" que el comercial. Sin embargo, se recomienda en el futuro estudiar otros tipos de fibras, ya que la utilizada en este trabajo le confirió al postre de vainilla un color marrón oscuro que no favoreció su aspecto visual, además de volverlo "arenoso" al paladar. Por estos motivos se consideró que no era necesario llevar a cabo un análisis sensorial.

BICLIOGRAFÍA

Marina Dello Staffolo, Alicia E. Bevilacqua, María Susana Rodríguez and Liliana Albertengo. 2012. Dietary Fiber and Availability of Nutrients: A Case Study on Yoghurt as a Food Model. En: Editora= Desiree N. Karunaratn. The Complex World of Polysaccharides. Primera edición. Rijeka, Croacia: Editorial: Intech. Pag 455-490.

DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE UN QUESO FRESCO SUPLEMENTADO CON ZINC Y CON CONTENIDO REDUCIDO DE COLESTEROL

Galante M.¹, Lazzaroni S.², Pavón Y.², Soazo M.^{1,3}, Boeris V.¹, Risso P.H.^{1,4}, Rozycki S.²

1: Universidad Nacional de Rosario - CONICET, Rosario, Argentina.

2: Instituto de Tecnología de Alimentos, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.

3: Instituto de Química Rosario - CONICET, Rosario, Argentina

4: Instituto de Física Rosario - CONICET, Rosario, Argentina
micagalante17@hotmail.com

Resumen: La industria alimentaria enfrenta el desafío de desarrollar nuevos alimentos funcionales que mejoren el estado nutricional general de la población con la finalidad de prevenir la incidencia de enfermedades surgidas como consecuencia de deficiencias nutricionales y de la ingesta excesiva con la dieta de compuestos tales como el Colesterol (Col). El objetivo de este trabajo fue elaborar un queso fresco o cuartirolo, fortificado con zinc (Zn^{2+}) y con contenido reducido de Col y compararlo con un queso tradicional. Para cumplir con este objetivo se elaboraron cremas a partir de la mezcla de crema de leche y de leche descremada, a las cuales se les extrajo el Col mediante el empleo de la β -ciclodextrina como agente extractor. A partir de las mismas fueron elaborados los quesos con y sin la adición de sales de Zn^{2+} ($ZnSO_4$ / $ZnCl_2$). Adicionalmente se elaboraron quesos testigos a partir de cremas tradicionales. Se determinaron

las concentraciones de Zn^{2+} y el porcentaje de extracción de Col (%ExtCol). Además se realizaron determinaciones fisicoquímicas, reológicas, de microestructura y sensoriales. Se obtuvo un queso fortificado en un 85% con Zn^{2+} y con contenido de Col reducido en un 93%, con características sensoriales semejantes al queso tradicional.

Palabras clave: Queso fresco, Fortificación con Zinc, extracción de colesterol, betaciclodextrina

Abstract: The food industry faces the challenge of developing new functional foods that improve the overall nutritional status of the population in order to prevent the occurrence of emerging diseases due to nutritional deficiencies and excessive dietary intake of compounds such as cholesterol (Chol). The aim of this study was to develop and compare a cuartirolo cheese fortified with zinc (Zn^{2+}) and reduced content of Chol, to a traditional cheese. To meet this objective creams were prepared from the mixture of cream and skim milk, to which Chol were extracted by using β -cyclodextrin as the extracting agent. From which cheeses were produced with and without the addition of Zn^{2+} salts ($ZnSO_4$ / $ZnCl_2$). Additionally witness cheeses were made from traditional creams. Zn^{2+} concentrations and Chol extraction percentage (% ExtChol) were determined. Further physicochemical, rheological, microstructure and sensory determinations were performed. The result being a fortified cheese by 85% with Zn^{2+} and Chol containing reduced by 93%, with similar sensory characteristics to the traditional cheese.

Key Word: Fresh Cheese, Zinc Fortification, Cholesterol extraction, betacyclodextrin

INTRODUCCIÓN

El estudio del proceso de coagulación de la leche bovina y de sus productos derivados es de gran importancia para la provincia de Santa Fe y sus zonas de influencia, ya que es una de las cuencas lecheras más importante de Latinoamérica. Debido al significativo incremento en la demanda de alimentos funcionales, la incorporación de valor agregado a los quesos y, al mismo tiempo, el cuidado en el mantenimiento de las características organolépticas de los mismos, es de sumo interés para nuestra región.

El Zn^{2+} es uno de los de los elementos traza más importantes que interviene como co-factor de más de 200 reacciones enzimáticas, lo que convierte a la deficiencia en su consumo en una problemática nutricional mundial. En los últimos años la deficiencia de Zn^{2+} ha afectado tanto a países desarrollados como en vía de desarrollo. La fortificación, o enriquecimiento, de los alimentos con nutrientes esenciales es utilizada desde hace más de 50 años como una forma de prevenir la incidencia de enfermedades surgidas como consecuencia de deficiencias nutricionales. Por lo tanto la fortificación de alimentos con minerales esenciales como el Zn^{2+} puede ser tenida en cuenta como una forma de contrarrestar la deficiencia en su ingesta.

La leche y los alimentos derivados de ésta son buenos candidatos para la incorporación de este elemento, no solo por su alto consumo mundial, sino también por su alto valor nutricional y su efecto regulador de los procesos de digestión y de absorción del mismo. Otra característica que hace de los productos lácteos como yogures y quesos la opción lógica para

la fortificación con Zn^{2+} es su pH bajo, que aumenta su solubilización y su biodisponibilidad.

Otro problema actual de importancia es la hipercolesterolemia que se produce, en parte, por la incorporación de Col con la dieta, ya que el producido en el hígado alcanza para la mayoría de los requerimientos diarios del organismo. Este exceso promueve enfermedades cardíacas y/o cerebrovasculares. Actualmente, los productos con contenido reducido de Col son aquellos a los cuales se les reduce el porcentaje de materia grasa (%MG). Un problema que enfrentan estos productos es que, tanto la reducción parcial como total de MG, tiene grandes efectos sobre el sabor y la textura de los mismos, lo que perjudica su aceptabilidad. Durante los últimos años se han investigado la estructura y las propiedades de las ciclodextrinas (CDs) y sus complejos para diferentes aplicaciones en alimentos, farmacología y biotecnología. Una aplicación interesante de las CDs es que pueden utilizarse para la separación de componentes no deseados de productos lácteos como leche, crema o quesos (Singh, Sharma et al. 2002). Dentro de la familia de las CDs se encuentra la β -ciclodextrina (β -CD), oligosacárido cíclico compuesto por uniones α -(1-4) de siete unidades de glucosas, que contiene una cavidad central en su arreglo molecular, la cual forma un complejo de inclusión con varios compuestos químicos entre ellos el Col. Las β -CD son además no tóxicas y químicamente estables. Por lo tanto el uso de β -CD resulta ventajoso para la remoción de Col en la industria alimentaria.

El objetivo del proyecto consistió en desarrollar y evaluar un queso fresco funcional, con contenido reducido de Col y suplementado con sales de Zn^{2+} , para consumo masivo, con miras a evitar el riesgo nutricional y/o cardiovascular, conservando el sabor y la textura del alimento tradicional.

MATERIALES Y MÉTODOS

Elaboración de la crema con contenido reducido de colesterol

Se homogeneizó una crema con 10% MG obtenida por mezcla de crema de leche (Manfrey, 48%MG) y de leche descremada (Milkaut, %MG despreciable) en un homogeneizador a válvula (Simes S.A) de dos etapas a una presión total de 100 atm a 70°C. Para la extracción de Col se utilizaron las condiciones optimizadas mediante un diseño experimental realizado previamente, adicionando β -CD (Kleptose®, Roquette), agitando convenientemente la mezcla y luego centrifugando a una velocidad de 700 g a 20°C durante 15 min con el objetivo de separar el complejo que forma la β -CD con el Col, quedando en el sobrenadante la crema con contenido reducido de Col.

Elaboración del queso fresco o cuartirolo

Las cremas con contenido reducido de Col fueron llevadas al 3% de MG con el agregado de leche descremada, fueron pasteurizadas por calentamiento a 65°C durante 20 min y llevadas a baño termostático a 40°C para dar comienzo a la elaboración de los quesos. La misma se llevó a cabo según el diagrama de flujo mostrado en la **Figura 1**.

Para el desarrollo de los quesos se utilizó fermento lácteo liofilizado STD (Diagrama S.A), cloruro de calcio anhidro de calidad pro-análisis (Cicarelli) y cuajo de origen bacteriano (Chy-Max®, Chr. Hansen,). Para la fortificación se utilizaron dos tipos de sales: sulfato de zinc ($ZnSO_4$) (Novalquim) y cloruro de zinc ($ZnCl_2$) (Cicarelli). Estas sales pertenecen a la lista de compuestos

reconocidos como GRAS (Generally Recognized As Safe) y son aptas para ser utilizadas en alimentos (Rosado 2003).

Se prepararon quesos testigos (QT) elaborados a partir de cremas tradicionales, no sometidas al tratamiento de extracción de Col, y quesos controles (QC), los cuales se prepararon con las cremas con contenido reducido de Col, con la finalidad de ser comparados con los quesos fortificados con las distintas sales de Zn^{2+} : $QZnSO_4$ y $QZnCl_2$. El Zn^{2+} fue adicionado a la crema a una razón de 16 mg de Zn^{2+} por kg de crema, antes del agregado del agente coagulante.

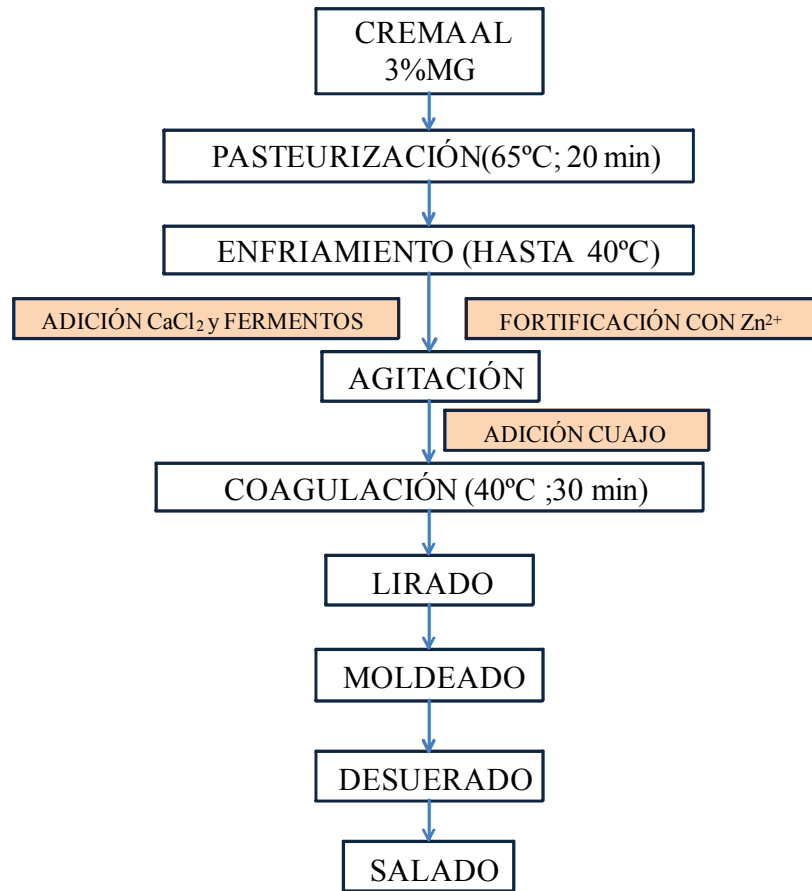


Figura 1: Diagrama de flujo del proceso de elaboración del queso fresco o cuartirolo.

Cuantificación del porcentaje de colesterol extraído

Para la cuantificación del Col las muestras se diluyeron previamente de manera tal que éstas tengan un porcentaje de MG final del 3%, se saponificaron las muestras con KOH y se realizó una extracción del Col de las muestras saponificadas con n-hexano (Lee, Ahn et al. 1999). Posteriormente se procedió a la cuantificación del Col extraído mediante el empleo de un kit enzimático colorimétrico comercial (laboratorios Wiener), determinándose la absorbancia de las muestras a una longitud de onda de 510 nm en un espectrofotómetro UV-Visible (Spekol 1200)(Pavón, Lazzaroni et al. 2014).

Determinación del contenido de zinc

El contenido de Zn²⁺ de los quesos obtenidos fue cuantificado mediante espectroscopía de absorción atómica. Dicho análisis se llevó a cabo en el Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI) de la ciudad de Rosario.

Determinación del porcentaje de humedad

Se pesaron 2 g de cada una de las muestras de queso (se registró el peso exacto en todos los casos), y se colocaron en cápsulas de porcelana. Cada una de estas fue llevada a estufa a una temperatura de 104±1°C con la finalidad de evaporar el agua de la muestra. Las muestras se pesaron periódicamente hasta alcanzar peso constante.

Determinaciones de color

Se tomaron imágenes de los quesos bajo las condiciones de iluminación apropiadas (Mendoza and Aguilera 2004) usando una cámara de alta resolución Nikon (Coolpix P520). Estas imágenes fueron procesadas haciendo uso del programa Photoshop, con la finalidad de obtener los parámetros L^* , a^* y b^* , en donde L^* es la luminosidad y adquiere los valores de 0 (negro) a 100 (blanco), y los parámetros a^* (del verde al rojo) y b^* (del azul al amarillo) son los componentes cromáticos que adquieren los valores que van desde -120 a +120 (Yam and Papadakis 2004).

Ensayo de capacidad de fusión (derretibilidad)

La derretibilidad o extensión durante el fundido se refiere a la capacidad de los trozos de queso desmenuzados de fluir y fusionarse formando una masa derretida cuando se calientan. En cada ensayo se colocaron sobre placas de Petri cilindros de queso de 37 mm de diámetro y 12 mm de altura obtenidos a no menos de 1 cm de cada borde (Muthukumarappan, Wang *et al.* 1999). El ensayo se realizó en una estufa con convección natural de aire cuya superficie se encontraba nivelada previo a cada ensayo de fusión. Las muestras se mantuvieron a 4°C durante 30 min antes del ensayo. Posteriormente, se sometieron a 130°C durante 15 min. Transcurrido ese tiempo, las muestras fueron retiradas de la estufa y enfriadas a 4°C. Se procedió a determinar las áreas para cuantificar la capacidad de fusión de los quesos. Los ensayos de fusión se realizaron por triplicado en los quesos con 20 días de maduración.

Determinación de firmeza

Mediante un test de penetración fue determinada la firmeza cuando la sonda elegida para el ensayo penetró 10 mm a los quesos en estudio.

Muestras cilíndricas de 4 cm de diámetro fueron penetradas por un cilindro de 2 cm de diámetro, a temperatura ambiente (20-21°C), a una velocidad de 10 mm/mín y usando un equipo Multitest 2.5-d (Mecmesin) acoplado a un dinamómetro digital (celda de carga de 100N). Todos los ensayos de penetración fueron llevados a cabo en el centro de la muestras. Fueron realizadas 5 determinaciones para cada tipo de queso analizado, siempre con una muestra nueva (Sanchez, Beauregard *et al.* 1995).

Estudios de microestructura: Microscopia confocal

Muestras de queso de 5 mm x 5 mm x 2 mm fueron colocadas en cubre objetos y fueron teñidas con 50µL de una solución de rodamina B (Sigma R6626; 0,01mg/mL), la cual se conoce que se une a proteínas tiñéndolas de color rojo (Auty, Twomey *et al.* 2001). Se trabajó con un microscopio confocal Nikon Eclipse TE-2000-E, tomándose imágenes de áreas representativas de las muestras usando una magnificación de la lente objetivo de 60X (de inmersión en aceite) y una apertura numérica de 1.4. Los archivos de las imágenes digitales fueron adquiridos con una resolución en píxel de 1024x1024. Estas imágenes fueron almacenadas con el programa EZ-C1 (Nikon) y luego fueron convertidas a formato TIFF para ser analizadas.

Determinación de parámetros de textura

El concepto de textura, desde un punto de vista computacional, difiere del concepto de textura desde el punto de vista de la industria alimentaria. Desde el punto de vista computacional hace referencia al arreglo espacial y al brillo de un pixel en una dada región de la imagen. La textura de una imagen refleja cambios en los valores de intensidad de los píxeles, que pueden contener información de la geometría estructural de los objetos. Con el fin de obtener los parámetros de textura, fueron utilizados distintos programas en lenguaje Python. Fueron calculados los parámetros de entropía (S), suavidad (K), uniformidad (U) y el valor de la variancia de la tonalidad de grises ($\sigma^2(N)$) (Ingrassia, Costa *et al.* 2013).

Determinación del tamaño de poro

Con el objetivo de determinar el diámetro de poro de los quesos a partir de las imágenes obtenidas por microscopía confocal, se utilizó un plugin del programa image J (versión 1.485), llamado Bone J (versión 1.3.12) (Doube, Kłosowski *et al.* 2010). Se obtuvo el parámetro llamado "espesor", que puede ser interpretado como el ancho de las cavidades o las distancias entre estructuras y que, en este caso en particular, puede dar un indicio para estimar la distribución de los diámetros de los poros de los quesos en estudio (Hildebrand and Rügsegger 1997).

Análisis sensorial

El análisis sensorial comprende una variedad de herramientas poderosas y sensibles para determinar la aceptación a nuevos

alimentos (Drake 2007). En el presente trabajo, el mismo fue realizado por el panel sensorial de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Litoral de la ciudad de Santa Fe. Muestras de aproximadamente 30 g, codificadas aleatoriamente y termostalizadas a 10°C, fueron evaluadas a los 25 días de maduración por 9 panelistas entrenados en la evaluación sensorial de este tipo de productos. Los descriptores se evaluaron en escalas continuas de 10 cm, no estructuradas, ancladas en los extremos. La **Tabla 1** indica los descriptores y extremos utilizados.

Tabla 1: Descriptores y referencias utilizadas en la evaluación sensorial de quesos frescos.

Descriptor	Referencias	
OLOR	1 = suave	9 = intenso
COLOR	1 = blanco neutro	9 = amarillento
ASPECTO DE LA MASA	1 = con agujeros	9 = ciega
ELASTICIDAD	1 = casi nada	9 = mucha
ADHERENCIA	1 = casi nada	9 = mucha
COHESIVIDAD	1 = budín	9 = salchicha
MASTICABILIDAD	1 = casi nada	9 = mucha
SENSACIÓN AL PALADAR	1 = áspera	9 = cremosa
GUSTO DULCE	1 = casi nada	9 = mucho
GUSTO SALADO	1 = suave	9 = intenso
GUSTO AMARGO	1 = casi nada	9 = mucho
GUSTO ÁCIDO	1 = casi nada	9 = mucho
SABOR A CREMA	1 = suave	9 = intenso
SABOR METÁLICO	1 = casi nada	9 = mucho
ASTRINGENCIA	1 = leve	9 = intensa
FLAVOR RESIDUAL	1 = casi nada	9 = mucho

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente para cada tipo de queso estudiado mediante Test ANOVA y Test de LSD (mínima diferencia significativa) para un 95% de confianza ($p < 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuantificación del proceso de extracción de Colesterol de la crema para la elaboración de los quesos

Se cuantificó el %ExtCol de las cremas base (10 %MG) que se utilizaron para la elaboración de los quesos dando por resultado una extracción del $93 \pm 1\%$ de Col.

Determinación de la concentración de zinc en los quesos

Los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla 2**. En la misma se exhiben la concentración de Zn^{2+} encontrada en las distintas muestras de queso, el porcentaje de rendimiento de los quesos (peso de cuajada obtenida cada 100 g de crema usada para su elaboración) y los valores correspondientes al porcentaje de fortificación con Zn^{2+} (porcentaje de Zn^{2+} recuperado en el queso luego de la fortificación).

Tabla 2: Concentraciones de Zn^{2+} en los quesos.

	33±2	12,2±0.5	
	26±2	13,1±0.5	
	129±8	13,5±0.1	87±7
	131±8	14±1	94±7

Se puede observar que el Zn^{2+} agregado a la crema con la que se elaboraron los quesos quedó retenido en más del 85% en el producto final. Este porcentaje resulta elevado comparado con los rendimientos de la masa de los quesos, ya que de 100 g de crema empleada para su elaboración se obtienen solamente entre 13-14 g de cuajada. Estos resultados ponen en evidencia lo ya reportado con anterioridad, que existe una interacción entre las moléculas de Zn^{2+} y las micelas de caseína (Pomastowski, Sprynskyy *et al.* 2014).

Estudio de Penetrometría

La firmeza de los quesos a los 10 mm se muestra en la **Figura 2**. En la misma se observa una marcada diferencia (estadísticamente significativa) entre los QT y los que recibieron el tratamiento de extracción del Col con la β -CD (QC, QZnSO₄ y QZnCl₂). La dureza de estos últimos a los 10 mm de penetración resultó menor que la de los QT. Esto es debido a que el proceso de homogeneización mecánica al que se sometieron las cremas (en el protocolo de extracción de Col) afecta la estructura de las proteínas, ocasionando que las caseínas se incorporen dentro de la membrana de los glóbulos de grasa lo que da lugar a una estructura más débil (Kwak, Nam *et al.* 2001).

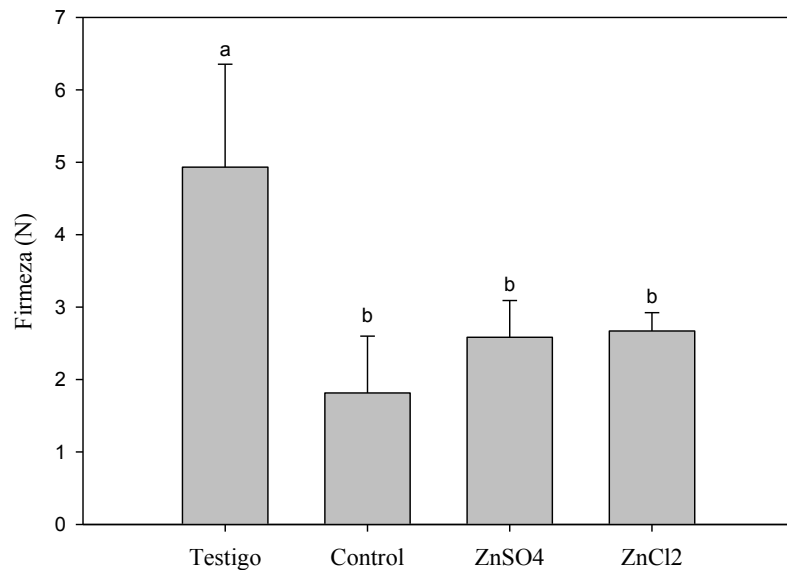


Figura 2: Firmeza de los quesos en estudio cuando la sonda cilíndrica los penetra 10 mm.

Análisis digital del Color

En las **Figuras 3A** y **3B** se pueden observar las imágenes de los quesos en estudio y los valores que tomaron los parámetros de color para cada una de las muestras, respectivamente. Se puede observar que los valores de luminosidad (L^*) se mantienen constantes para los distintos tipos de quesos analizados. Por otra parte, los valores de los parámetros a^* y b^* cambian significativamente en los quesos elaborados a partir de las cremas sometidas al tratamiento de extracción de Col con respecto a los quesos elaborados a partir de cremas

tradicionales. Esta alteración en los valores de a^* y b^* que presentaron las muestras de QC, QZnSO₄ y QZnCl₂ con respecto a los valores hallados para los QT, se corresponden con una disminución en la intensidad de los matices de los colores verdes y amarillos, respectivamente.

Análisis de imágenes

En la **Figura 4** se pueden observar las imágenes obtenidas con el microscopio confocal de las distintas muestras de queso analizadas, mientras que en la **Tabla 3** y en la **Figura 5** se muestran los parámetros de textura y los box plots de las distribuciones de los tamaños de poro. Se puede observar que los valores de los parámetros S, K y $\sigma^2(N)$ disminuyen en el QC y con la adición de las distintas sales, con respecto a los valores observados para el QT, mientras que se observó que el parámetro U aumenta. Un incremento en el valor de U implica una tendencia a una distribución uniforme en la escala de grises en la imagen, mientras que una disminución en los valores de S, K y $\sigma^2(N)$ se corresponden con una estructura en donde las partículas se encuentran dispersadas uniformemente por toda la imagen. Como resultado del proceso de homogenización al que se sometió a las cremas con la finalidad de extraer el Col, se obtuvieron quesos con poros más pequeños y distribuidos homogéneamente a lo largo de toda la imagen, mientras que para el QT se pueden observar poros más grandes ubicados en sectores bien definidos en la imagen y más irregulares. Estos resultados son consistentes con la menor firmeza obtenida para los quesos sometidos al tratamiento de homogenización. Por otra parte, el hecho de que no se observaron diferencias ni en los valores de los parámetros de textura analizados ni en los

tamaños de poro entre las muestras control y las que recibieron fortificación con las distintas sales de Zn^{2+} confirma que lo que estaría cambiando la microestructura de los quesos no sería la adición de las distintas sales, sino el proceso de homogeneización mecánica.

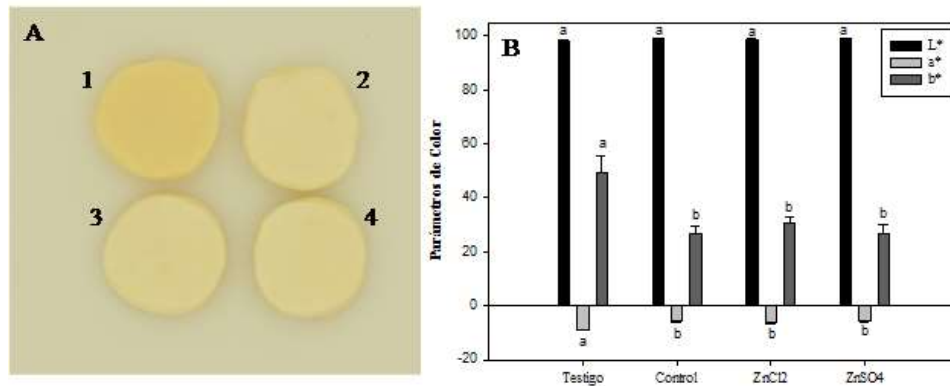


Figura 3: A) Imágenes de las muestras analizadas tomadas en condiciones apropiadas de iluminación (1-QT; 2-QC; 3-QZnSO₄; 4-QZnCl₂). B) Parámetros de Color de las muestras en estudio.

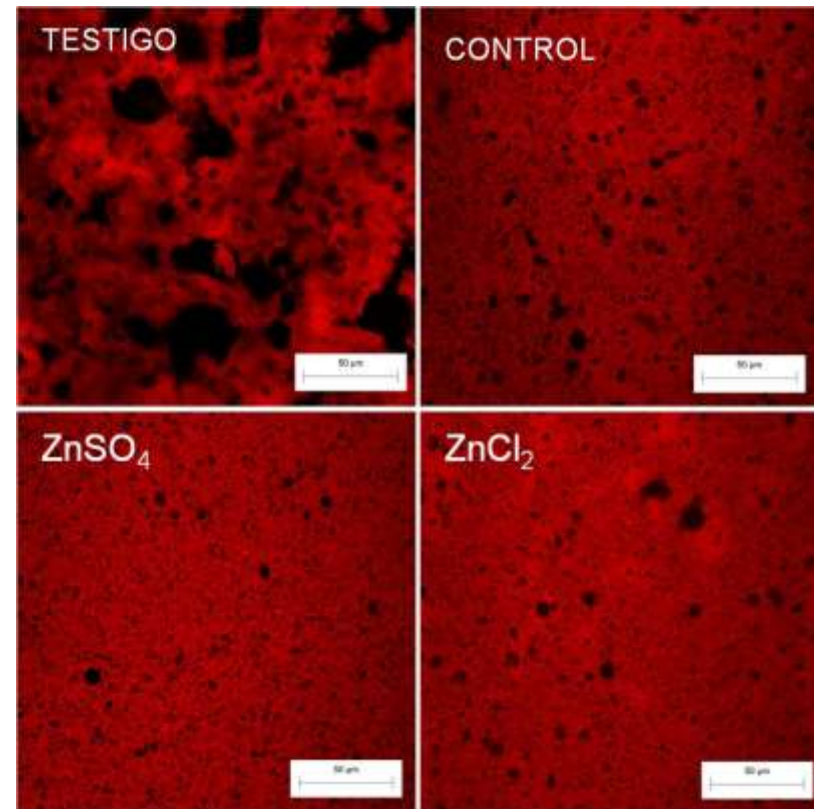


Figura 4. Imágenes de la microestructura de los quesos en estudio obtenidas mediante microscopía confocal.

Tabla 3: Parámetros de textura.

Parámetro textura	Testigo	Control	ZnSO ₄	ZnCl ₂
Entropía	5,8±0,2	5,4±0,1	5,24±0,02	5,28±0,08
Suavidad	0,043±0,005	0,017±0,002	0,014±0,001	0,016±0,001
Varianza	2900±300	1100±100	930±60	1050±80
Uniformidad	0,023±0,004	0,031±0,003	0,031±0,001	0,030±0,002

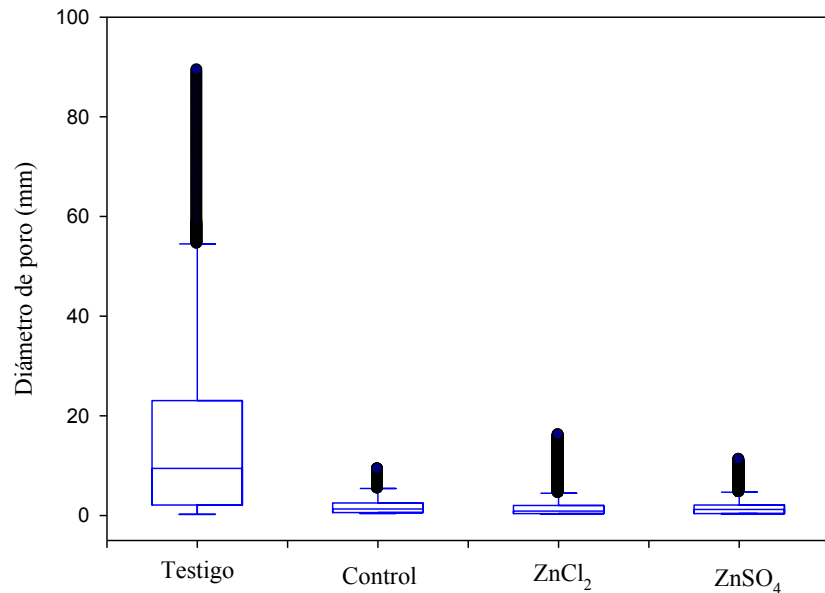


Figura 5: Box plots de las distribuciones de tamaño de poro de los distintos quesos en estudio.

Determinación del porcentaje de humedad de los quesos

En la **Tabla 4** se muestran los valores de porcentaje de humedad obtenidos para los quesos en estudio. Los mismos variaron muy levemente entre las muestras estudiadas, en donde el queso control mostró tener un porcentaje de humedad significativamente (95% de confianza) inferior que el resto de las muestras analizadas.

Tabla 4: Porcentaje de humedad de los quesos en estudio

	(56,4±0,5) ^a
	(53,9±0,4) ^b
	(55,8±0,9) ^a
	(55,8±0,1) ^a

Ensayos de derretibilidad

El QT presentó mayor derretibilidad (mayor área final luego del ensayo de fusión) que el QC y los adicionados con sales de Zn²⁺, observándose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Esto estaría relacionado con el proceso de homogenización que afectaría significativamente esta propiedad funcional. Entre el QC y los adicionados con sales de Zn²⁺ no hubo diferencias significativas entre las áreas de fusión. Las áreas iniciales y finales obtenidas se muestran en la **Figura 6**.

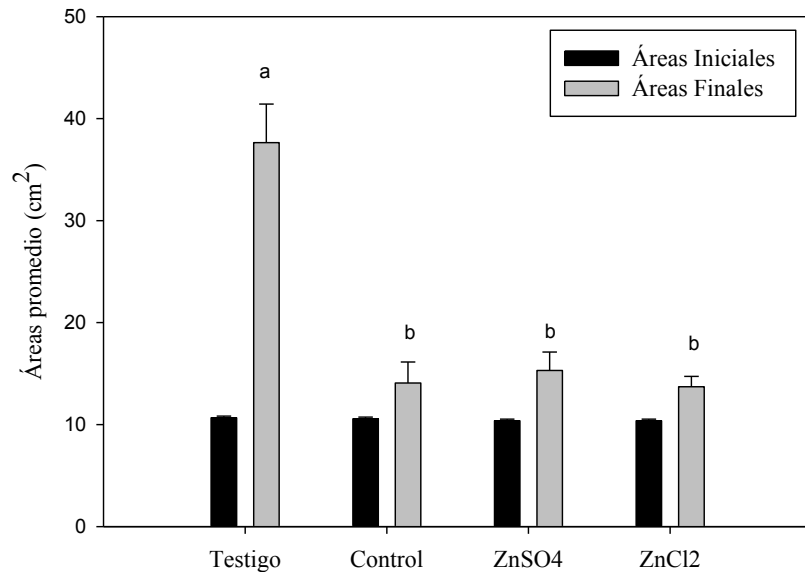


Figura 6: Representación gráfica de las áreas de las muestras cilíndricas de los quesos determinadas antes y después del ensayo de derretibilidad.

Análisis sensorial

Las características sensoriales de los quesos fueron evaluadas en el presente trabajo por un panel sensorial entrenado. Los resultados del mismo se muestran en la **Figura 7**, donde se presentan los valores promedio que adquirieron los descriptores para cada una de las muestras.

A partir del valor promedio de los descriptores podemos interpretar que el olor a crema se detectó en mayor intensidad

en el QT, mientras que fue menor en el caso del QZnSO₄. Para el caso del QZnCl₂, no se observaron diferencias estadísticamente significativas con el QT y QC, pero sí en el caso del QZnSO₄. En cuanto al color característico fue más intenso y estadísticamente diferente en el caso del QT comparado con el resto. El aspecto de la masa fue homogéneo, no presentándose diferencias estadísticamente significativas entre las muestras, siendo los puntajes altos y cercanos al extremo superior (9,0). Para el caso de la elasticidad, se observó que el QZnSO₄ presentó menor elasticidad que las demás muestras, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. La adherencia al paladar fue mayor en los casos de los quesos adicionados con sales, ocurriendo lo contrario para el QT. La cohesividad fue menor para el QZnSO₄ y mayor para el QT. Todos los quesos presentaron similar masticabilidad y sensación al paladar, no detectándose diferencias estadísticamente significativas entre las muestras para ambos descriptores. El gusto dulce fue calificado como "casi nada perceptible" en todas las muestras, por lo que el remanente de β-CD no estaría influyendo en la percepción de este descriptor. El gusto ácido, salado y amargo fue poco percibido entre las diferentes muestras, no habiendo diferencias estadísticamente significativas entre las mismas. El sabor a crema se detectó de manera similar en todas las muestras, por lo tanto, el proceso de extracción de Col no alteró las propiedades organolépticas propias de éstas. No se detectó prácticamente sabor metálico. La astringencia fue muy baja para las diferentes muestras, no encontrándose diferencias significativas entre las mismas.

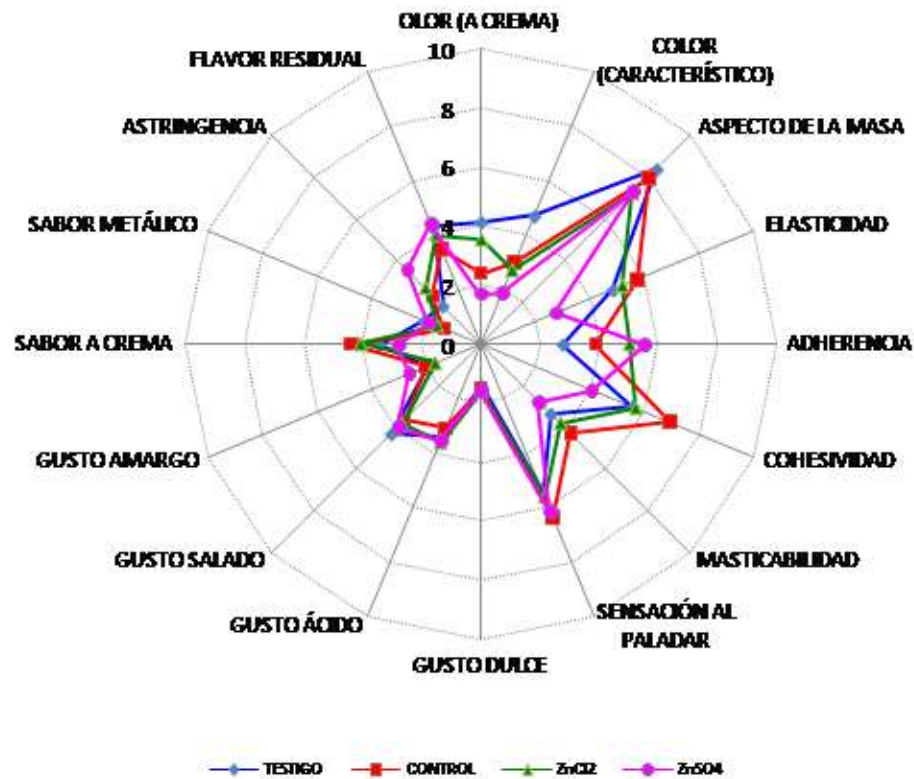


Figura 7: Comparación de los valores promedios obtenidos de los descriptores para cada muestra de queso analizada.

Los resultados de la evaluación sensorial son consistentes con lo reportado anteriormente por Gulbas y Saldamli (Gulbas and Saldamli 2005), por Abd-Rabou et al. (Abd-Rabou, Zaghloul et al. 2010) y por Kahraman y Ustunol (Kahraman and Ustunol 2012). Estos autores estudiaron el efecto sobre las características

sensoriales en diferentes tipos de productos lácteos, distintos de queso fresco y reportaron que la fortificación con Zn^{2+} no afecta negativamente (en las concentraciones ensayadas) las características sensoriales de los alimentos.

CONCLUSIONES

Se elaboraron quesos frescos con una reducción del contenido de Col del 93% y una fortificación con Zn^{2+} superior al 85% (**Figura 8**). Una porción de 30 g de queso fresco aportaría un 56% de la dosis diaria recomendada (IDR) para hombres adultos y el 80% de la IDR para las mujeres, según los valores preestablecidos en el artículo 1381 del Código Alimentario Argentino. En cuanto a las características sensoriales de los quesos fortificados con Zn^{2+} y con contenido reducido de Col, resultaron ser muy similares a las del QT. El sabor dulce se detectó en muy baja intensidad, indicando que los restos del compuesto β -CD que podrían haber quedado como remanente de su uso para la extracción del Col de las cremas no tuvieron incidencia significativa sobre el sabor del producto. Además, se descartó que la presencia de las sales de Zn^{2+} , en las concentraciones ensayadas, le confieran un gusto metálico y astringente a los quesos fortificados.

Las diferencias encontradas en los ensayos de firmeza, microestructura, derretibilidad y color son atribuibles al proceso de homogeneización mecánica al que fueron sometidas las cremas con el objetivo de extraer el Col, y no a la adición de las sales de Zn^{2+} . No obstante, estas diferencias no afectaron de forma negativa a las características organolépticas de los quesos analizados.

Teniendo en cuenta todo lo mencionado anteriormente, se concluye que se ha cumplido con la premisa principal de este trabajo que fue lograr un producto que además de una ventaja nutricional, como lo es el aporte extra de Zn^{2+} , y una

característica funcional como lo es la reducción de Col, pudiera mantener las características organolépticas del queso tradicional.



Figura 8: Imagen de los quesos obtenidos, fortificados con sales de Zn^{2+} y con contenido reducido de Col.

BIBLIOGRAFÍA

Abd-Rabou, N. S., A. H. Zaghloul, F. L. Seleet and M. A. El-Hofi. 2010. Properties of Edam cheese fortified by dietary zinc salts. *Journal of American Science*, 6:

- Auty, M. A., M. Twomey, T. P. Guinee and D. M. Mulvihill.2001. Development and application of confocal scanning laser microscopy methods for studying the distribution of fat and protein in selected dairy products. *Journal of Dairy Research*,68: 417-427.
- Doube, M., M. M. Kłosowski, I. Arganda-Carreras, F. P. Cordelières, R. P. Dougherty, J. S. Jackson, B. Schmid, J. R. Hutchinson and S. J. Shefelbine.2010. BoneJ: Free and extensible bone image analysis in ImageJ. *Bone*,47: 1076-1079.
- Drake, M.2007. Invited review: Sensory analysis of dairy foods. *Journal of Dairy Science*,90: 4925-4937.
- Gulbas, S. Y. and I. Saldamli.2005. The effect of selenium and zinc fortification on the quality of Turkish white cheese. *International journal of food sciences and nutrition*,56: 141-146.
- Hildebrand, T. and P. Rügsegger.1997. A new method for the model-independent assessment of thickness in three-dimensional images. *Journal of microscopy*,185: 67-75.
- Ingrassia, R., J. P. Costa, M. E. Hidalgo, M. Mancilla Canales, H. Castellini, B. Riquelme and P. Risso.2013. Application of a digital image procedure to evaluate microstructure of caseinate and soy protein acid gels. *LWT - Food Science and Technology*,53: 120-127.
- Kahraman, O. and Z. Ustunol.2012. Effect of zinc fortification on Cheddar cheese quality. *Journal of Dairy Science*,95: 2840-2847.
- Kwak, H., C. Nam and J. Ahn.2001. Low Cholesterol Mozzarella Cheese Obtained from Homogenized and B—Cyclodextrin—Treated Milk. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*,14: 268-275.
- Lee, D. K., J. Ahn and H. S. Kwak.1999. Cholesterol Removal from Homogenized Milk with β -Cyclodextrin. *Journal of Dairy Science*,82: 2327-2330.
- Mendoza, F. and J. Aguilera.2004. Application of image analysis for classification of ripening bananas. *Journal of Food Science*,69: E471-E477.
- Muthukumarappan, K., Y. C. Wang and S. Gunasekaran.1999. Short Communication: Modified Schreiber Test for Evaluation of Mozzarella Cheese Meltability1. *Journal of Dairy Science*,82: 1068-1071.
- Pavón, Y. L., S. M. Lazzaroni, N. G. Sabbag and S. D. Rozycki.2014. Simultaneous effects of gelatin and espina corona gum on rheological, physical and sensory properties of cholesterol-reduced probiotic yoghurts. *International Journal of Food Science & Technology*,
- Pomastowski, P., M. Sprynskyy and B. Buszewski.2014. The study of zinc ions binding to casein. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*,120: 21-27.
- Rosado, J. L.2003. Zinc and copper: proposed fortification levels and recommended zinc compounds. *The Journal of nutrition*,133: 2985S-2989S.
- Sanchez, C., J. Beauregard, M. Chassagne, J. Bimbenet and J. Hardy.1995. Effects of processing on rheology and structure of double cream cheese. *Food research international*,28: 547-552.
- Singh, M., R. Sharma and U. Banerjee.2002. Biotechnological applications of cyclodextrins. *Biotechnology advances*,20: 341-359.
- Yam, K. L. and S. E. Papadakis.2004. A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces. *Journal of Food Engineering*,61: 137-142.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a los miembros del panel sensorial perteneciente al Instituto de Tecnología de Alimentos de la Universidad Nacional

del Litoral por colaborar realizando la evaluación sensorial de los quesos en estudio.

A la UNL por su programa CAI+D (proyecto PI 501 201101 00427 LI) y a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica por el subsidio PICT (2011- 1354) que ayudaron a financiar el presente trabajo.

La Lic. Galante M, la Dra Lazzaroni S y la Dra Pavón Y. agradecen a CONICET por sus respectivas becas.

CALIDAD DE AGUAS SUBTERRÁNEAS DE LAS PROVINCIAS DE CÓRDOBA Y SANTA FE

Garnero S.¹, Andreatta A.E.^{1,2}, Garnero J.¹, Arposio A.¹

1: Universidad Tecnológica Nacional. Facultad Regional San Francisco. Av. de la Universidad 501, 2400, San Francisco, Córdoba, Argentina.

2: IDTQ- Grupo Vinculado PLAPIQUI – CONICET- FCEFyN – Universidad Nacional de Córdoba, X5016GCA, Av. Vélez Sarsfield 1611, Córdoba, Argentina.

aandreatta@plapiqui.edu.ar

Resumen: Con el objetivo de investigar la calidad de aguas subterráneas del Noreste (NE) de la provincia de Córdoba, y Noroeste (NO) de la provincia de Santa Fe, se tomaron muestras representativas de diferentes sectores, identificadas en coordenadas GPS, todas ellas procedentes de pozos de profundidad variable y cuyo destino es consumo animal, riego y en menor medida, consumo humano. De un total de 50 muestras, se determinaron por duplicado: color, turbidez, potencial hidrógeno (pH), conductividad, dureza, alcalinidad total, cloruros, sulfatos y sólidos totales disueltos (STD). Además se determinaron las concentraciones de nitratos, nitritos, amonio, arsénico, fierro y fluoruros. El ensayo de demanda química de oxígeno (DQO) se realizó al 50 % de las mismas. Los resultados fueron sometidos a un análisis estadístico a los fines de establecer una influencia entre las posiciones geográficas y el contenido en los componentes del agua determinados. Se determinó que ninguna de las muestras analizadas cumple con la

normativa del Código Alimentario Argentino (CAA) para ser agua potable. Las muestras fueron tomadas entre mayo y noviembre de 2013.

Palabras claves: Agua, Subterránea, Nitratos, Córdoba, Santa Fe, Potabilidad.

Abstract: In order to investigate the quality of groundwater in the Northeast (NE) of the province of Córdoba, and northwest (NW) of the province of Santa Fe, representative samples from different sectors identified in the GPS coordinates were taken all from of varying depth and destined for animal consumption, irrigation, and to a lesser extent human consumption. A total of 50 samples were determined in duplicate: color, turbidity, hydrogen potential, conductivity, hardness, total alkalinity, chloride, sulfate and total dissolved solids. Also the concentrations of nitrate, nitrite, ammonia, arsenic, iron and fluoride were determined. The assay of chemical oxygen demand was performed at 50% of the samples. The results were subjected to statistical analysis in order to establish an influence among geographic locations and content on certain components of water. It was determined that none of the samples complies with the Argentine Food Code for drinking water. The samples were taken between May and November 2013.

Keywords: Water, Underground, Nitrate, Córdoba, Santa Fe, Potability.

INTRODUCCIÓN

Actualmente existen varios sectores de la provincia de Córdoba y Santa Fe en los cuales se realizan perforaciones para encontrar aguas subterráneas. Éstas, se destinan a diversas utilidades; principalmente a consumo animal, en menor medida a riego y en algunos casos para consumo humano. El área de estudio se encuentra emplazada en las cuencas lecheras ubicadas en el Noreste (NE) de la provincia de Córdoba y Noroeste (NO) de la provincia de Santa Fe, donde se pueden encontrar varios tambos distribuidos. A ello se suma la agricultura, las condiciones edáfico-climáticas favorables que confluyen en una actividad agrícola-ganadera constante. Por otra parte, existen algunos asentamientos donde no llega agua corriente, motivo por el cual el agua de extracción subterránea es la que se emplea para uso doméstico e inclusive para consumo humano. Los motivos mencionados, conducen a considerar la calidad del agua subterránea, tomando como componentes críticos de la misma el contenido de nitritos, nitratos, arsénico, hierro, amonio, fluoruros y demanda química de oxígeno (DQO) como representante de su calidad microbiológica, sustancias claves en determinación de la aptitud hacia los fines mencionados.

El nitrógeno en el agua se puede encontrar en cuatro formas diferentes: nitrógeno orgánico (presente en proteínas vegetales, animales y excretas), nitrógeno amoniacal (generado por procesos metabólicos, agropecuarios e industriales), compuestos en forma de nitritos y compuestos en forma de nitratos. La descomposición por microorganismos transforma fácilmente el material nitrogenado orgánico en amoniacal. En la naturaleza, y

en presencia de oxígeno, el nitrógeno amoniacal se transforma en nitrito y éste, rápidamente, en nitratos, que es la forma más oxidada que se encuentra el nitrógeno en el agua. El amoníaco es un indicador de posible contaminación del agua con bacterias, aguas residuales o residuos de animales. Las concentraciones de nitrato y nitrito en la naturaleza han aumentado por las actividades humanas (uso de fertilizantes, descargas de líquidos cloacales e industriales, desechos de las actividades ganaderas, la combustión y los aerosoles). Los efectos más importantes de los nitratos sobre el medio ambiente son: la contaminación de cuerpos de agua con compuestos nitrogenados (y microorganismos), llevándolos hacia la eutroficación, la polución del aire urbano. La presencia de amoníaco en el agua de consumo no tiene repercusiones inmediatas sobre la salud, de modo que no se propone un valor de referencia basado en efectos sobre la salud. No obstante, el amoníaco puede reducir la eficiencia de la desinfección, ocasionar la formación de nitrito en sistemas de distribución, obstaculizar la eliminación de manganeso mediante filtración y producir problemas organolépticos (OMS, 2003).

El arsénico puede encontrarse en el agua en forma natural y a veces en concentraciones muy altas, debido a su presencia en la corteza terrestre y por procesos de erosión o vulcanismo o debido a las descargas industriales. En el ambiente el arsénico inorgánico se encuentra como arsénico metálico, arsénico trivalente (III) como trióxido de arsénico (As_3O_5) y arsénico pentavalente (V) como pentóxido de arsénico (As_2O_5). Aparece en mayores concentraciones en aguas blandas, ricas en bicarbonato de sodio (alcalinas). En un área o zona de aguas arsenicales se puede establecer que una mayor alcalinidad del agua, corresponderá una mayor concentración de arsénico; por

el contrario, en aguas ricas en sales de calcio y magnesio, ya sea bicarbonatadas o sulfatadas, no aparecerá el arsénico o lo hará en bajas concentraciones. Debido a la acumulación en el organismo, a su toxicidad en pequeñas dosis a su acción cancerígena y a su frecuente presencia en aguas de nuestro país, es necesario prestar especial atención al contenido de este elemento en aguas de provisión.

El flúor, como elemento, puede encontrarse en los gases volcánicos, en las rocas sedimentarias ó en las rocas ígneas. Por lo tanto, los compuestos de flúor se hallan generalmente, en cantidad mayor en aguas subterráneas que en superficiales. Se acepta que la ingesta de concentraciones determinadas de ión fluoruro en el agua de bebida previene parcialmente las caries dentales. Se sabe además, que el flúor es el causante de la fluorosis dental, un manchado de los dientes que ocurre cuando el contenido en fluoruros de las aguas para consumo sobrepasa la dosis aceptable.

El hierro en concentraciones superiores a su tolerancia, puede producir el manchado en telas y artefactos sanitarios por deposición y/o formación de compuestos insolubles de hierro y a su vez, impartir color y/o turbiedad a las aguas y un sabor metálico característico. Las aguas ferruginosas y manganosas pueden dar lugar a que se desarrollen, en zonas de poca circulación del agua o en depósitos, las llamadas "bacterias del hierro y el manganeso" confiriéndole olor fétido y color.

El ensayo de DQO mide el Carbono orgánico total, con excepción de ciertos aromáticos como el benceno el cual no es oxidado por el agente utilizado en esta determinación. El ensayo mide los miligramos de oxígeno por litro de agua necesarios para oxidar las sustancias orgánicas presentes en la misma.

Estudios previos sobre la calidad de las aguas subterráneas y

superficiales fueron realizados en la Argentina. Por ejemplo, en la cercanía de la Ciudad de Balcarce, Provincia de Buenos Aires en el año 2002, se investigó la contaminación de nitratos en los acuíferos de la zona rural de esa región (Costa *et al.*, 2002). Galindo *et al.*, 2007 analizaron la calidad de las aguas superficiales y subterráneas del nordeste de la provincia de Buenos Aires. Además, se analizó un estudio sobre el contenido de arsénico y oligoelementos asociados en las aguas subterráneas de la Región Chaco-Pampeana (Nicolli *et al.*, 2012). En cuanto la investigación de Smedley *et al.*, 2002 en la Provincia de La Pampa (LP), centra su foco en la hidrogeoquímica del arsénico y otros componentes inorgánicos de sus aguas. La **Tabla 1** evidencia los valores máximos permitidos para potabilidad de aguas establecidos por el CAA, 2012, correspondiente tanto a los parámetros determinados para caracterización de las muestras de agua como para los parámetros de investigación.

Tabla 1: Valores máximos permitidos de los parámetros de caracterización y de investigación determinados en el presente trabajo para potabilidad de aguas, según el CAA.

	Parámetro (unidad)	Valores permitidos	máx.					
Caracterización	Color	3 NT U		Dureza	Titulométrico	2140 C	EDTA 0.1M, Negro de Eriocromo T en polvo	Material de vidrio
	Turbidez	5 escala Pt - Co		Conductividad	Conductimétrico	2510 B	KCl 0.1 N	Conductímetro
	pH (upH)	6,5- 8,5		Cloruro	Argentométrico	Cl ⁽⁻⁾ B	AgNO ₃ 0.1N, K ₂ CrO ₄ 5%	Material de vidrio
	Conductividad (dS/m)	No se expide		pH	Electrométrico	4500 H ⁽⁺⁾ B	Buffer pH 7, Buffer pH 4	Peachímetro
	Dureza total (mg/L)	400		STD	Gravimétrico	2540 C	-	Estufa de secado
	Alcalinidad total (mg/L)	No se expide		Amonio	Nesslerización	4500 NH ₃ C	Reactivo de Nessler N° 21194-49 HACH. Estabilizador mineral N° 23766-26 HACH. APV N° 23765-26 HACH	Espectrofotómetro
	Cloruros (mg/L)	350						
	Sulfatos (mg/L)	400						
	STD (mg/L)	1.400						
Investigación	Arsénico (mg/L)	< 0,01						
	Nitritos (mg/L)	0,1						
	Nitratos (mg/L)	45		Nitrato	Reducción de Cadmio	4500 NO ₃ ⁽⁻⁾ F	Reactivo NitraVer5, N° 14034-99 HACH	Espectrofotómetro
	Amonio (mg/L)	0,20		Nitrito	Colorimétrico	4500NO ₂ ⁽⁻⁾ B	Reactivo NitriVer3, N° 21071-69 HACH	Espectrofotómetro
	Hierro (mg/L)	0,20		Sulfato	Turbidimétrico	4500SO ₄ ⁽²⁻⁾ E	Reactivo SulfaVer4, N° 12065-99 HACH	Espectrofotómetro
	Fluoruro (mg/L)	0,7 a 1,2 para T media anual 17,7°C		DQO	Colorimétrico	5220 D	Reactivo digestión DQO hasta 150 mg/L N° 212580-25 HACH	Termorreactor
	DQO	No se expide		Arsénico	Colorimétrico	3500 AsC	Reactivo Arsen 50 Quantofix, N° 332706, Macherey-Nagel	Material del kit

Tabla 2: Método analítico, norma de referencia, reactivos y equipos utilizados Clesceri, 1992.

Determinación	Método Analítico	Norma de referencia	Reactivos	Equipos				
Color	Comparación visual	2120 B	-	Material de vidrio				
Turbidez	Nefelométrico	2130 B	-	Espectrofotómetro				
Alcalinidad	Titulométrico	2320 B	HCl 0.1N, Fenolftaleína 0.1%, Heliantina 0.1%	Material de vidrio	Hierro	Colorimétrico	3500 Fe D	Reactivo FerroVer N° 21057-69 HACH
					Fluoruro	Colorimétrico	4500 F D	Reactivo Spadhs, N° 444-49 HACH

MATERIALES Y MÉTODOS

La toma de muestras se efectuó en botellas de 1 L, completamente limpias, en las cuales se recirculó previamente agua por el intervalo de 3 minutos. En la **Tabla 2** se presenta el método analítico, la norma de referencia utilizada, los reactivos y los equipos para cada uno de los ensayos que se realizaron en este trabajo y que fueron extraídos de Clesceri, 1992.

Los modelos de los equipos utilizados corresponden a: conductímetro COMBOI HI 98130, espectrofotómetro HACH DR2800, peachímetro ALTRONIX TPX-I, termorreactor VelpScientífica ECO25. Además, como equipos básicos de laboratorio se utilizó una estufa de secado DALVO modelo SB464, balanza gravimétrica METTLER modelo P1000N 0,001 g y balanza analítica DENVER APX-200 g a 0,0001 g.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La **Tabla 3** muestra la media, el desvío estándar (DE), el valor máximo y la mediana pertenecientes al total de las determinaciones efectuadas para los parámetros de: pH, conductividad, dureza, alcalinidad total, cloruros, sulfatos y STD pertenecientes a los parámetros de caracterización.

Tabla 3: Valores estadísticos procedentes de la caracterización de las muestras de agua

<i>Parámetro (unidad)</i>	<i>Media</i>	<i>DE</i>	<i>Máximo</i>	<i>Mediana</i>
pH (upH)	7,37	0,12	9,28	7,44
Conductividad (dS/m)	4,4	0,23	10,38	4,12
Dureza (mg/L)	308,75	19,99	860	240

Alcalinidad total (mg/L)	849,95	31,66	1708	884,3
Cloruros (mg/L)	702,11	59,39	2592	532,5
Sulfatos (mg/L)	866,25	88,58	4814	580
STD (mg/L)	2996,5	157,44	7058	2790,5

Las **Figuras 1** y **2** muestran la incidencia de la profundidad del pozo para la concentración de los parámetros de caracterización: dureza, alcalinidad total, cloruros, sulfatos, STD y para los parámetros de investigación: nitratos, nitritos, amonio, arsénico, hierro y fluoruros respectivamente. De las muestras analizadas, los porcentuales correspondientes a las profundidades fueron: 10 m (2 %); 12 m (2 %); 15 m (10 %); 18 m (8 %); 20 m (28 %); 25 m (14 %); 50 m (18 %); 80 m (10 %); 110 m (6 %) y 130 m (2%). Para los parámetros de caracterización, estos valores de profundidad fueron estratificados bajo el siguiente criterio: a) baja profundidad (10 m, 12 m y 15 m) que corresponde al 14 % de las muestras; media profundidad (18 m, 20 m, 25 m y 50 m) que corresponde al 68 % de las muestras y alta profundidad (80 m, 110 m y 130 m) que corresponde al 18 % de las muestras.

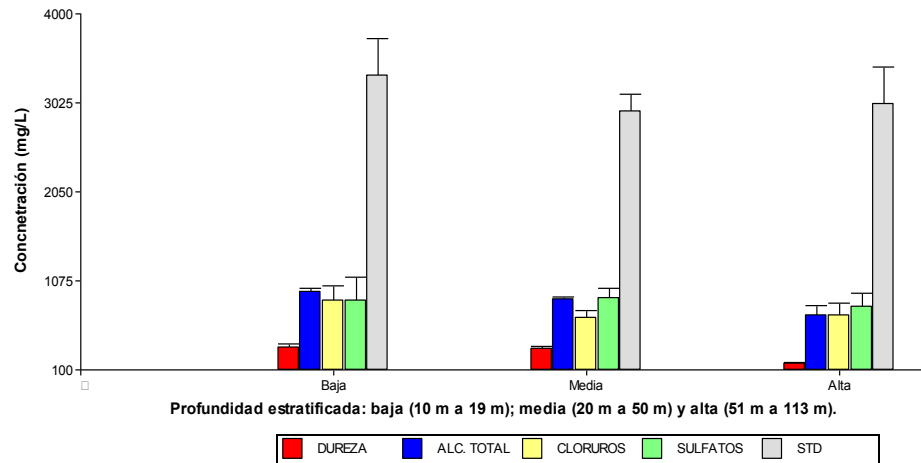


Figura 1: Concentración de los parámetros de caracterización en función de la profundidad estratificada.

Respecto a la **Figura 1**, el contenido de dureza en todas las muestras analizadas se encuentran por debajo del límite permitido por el CAA, mientras que los restantes valores de los parámetros de caracterización exceden los permitidos. Los segmentos que se encuentran en esta figura por encima de cada barra, se corresponden al desvío estándar obtenido del promedio de los valores.

En la **Figura 2**, la línea negra horizontal que atraviesa las barras, corresponde al nivel máximo permitido según el CAA en contenido de nitratos, nitritos, amonio, arsénico, hierro y DQO respectivamente. Mientras que las dos líneas rojas presentes en la **Figura 2(E)** corresponden al intervalo de aceptación de fluoruro según temperatura media anual y especificada en el CAA, 2012.

La **Figura 2(A)**, muestra que la concentración de nitratos tiene una tendencia logarítmica con la profundidad del pozo. Es decir, se encuentra una menor cantidad de nitratos en las aguas subterráneas de los pozos de mayor profundidad. La concentración de nitritos, amonio, arsénico, hierro y fluoruros no presentan una marcada tendencia en función de la profundidad del pozo (**Figura 2B-E**). La concentración de arsénico, hierro y fluoruros se debe a un origen de formación geológico por lo que la concentración es diferente de una profundidad a otra.

La **Figura 2B**, muestra que todas las muestras analizadas superan el límite permitido por el CAA en el contenido de nitritos mientras que la **Figura 2C**, sólo las muestras de 110 m de profundidad (3 muestras) están dentro de los límites permitidos de amonio, mientras que las muestras de 130 m de la **Figura 2D** (una muestra) de profundidad se encuentran dentro de los límites tolerables en arsénico y de fluoruros (**Figura 2E**). Como también se observa en la **Figura 2E**, muchas de las muestras se encuentran dentro de los límites permitidos por el CAA en el contenido del hierro. Con respecto a la **Figura 2F**, se puede deducir que hay una constancia de los valores de la DQO hasta profundidades de 50 m y luego una disminución, dado que a más profundidad menos oxígeno y menos demanda por parte de los microorganismos aerobios.

Para evaluar la variabilidad de las posiciones geográficas con los parámetros objetos de investigación sobre la calidad de las muestras, se ha recurrido al análisis multivariado de componentes principales (ACP) utilizando el programa estadístico Infostat.

En cuanto a la variabilidad de los parámetros fisicoquímicos de las muestras de aguas con relación a las coordenadas geográficas se realizó un ACP cuya representación en diagramas

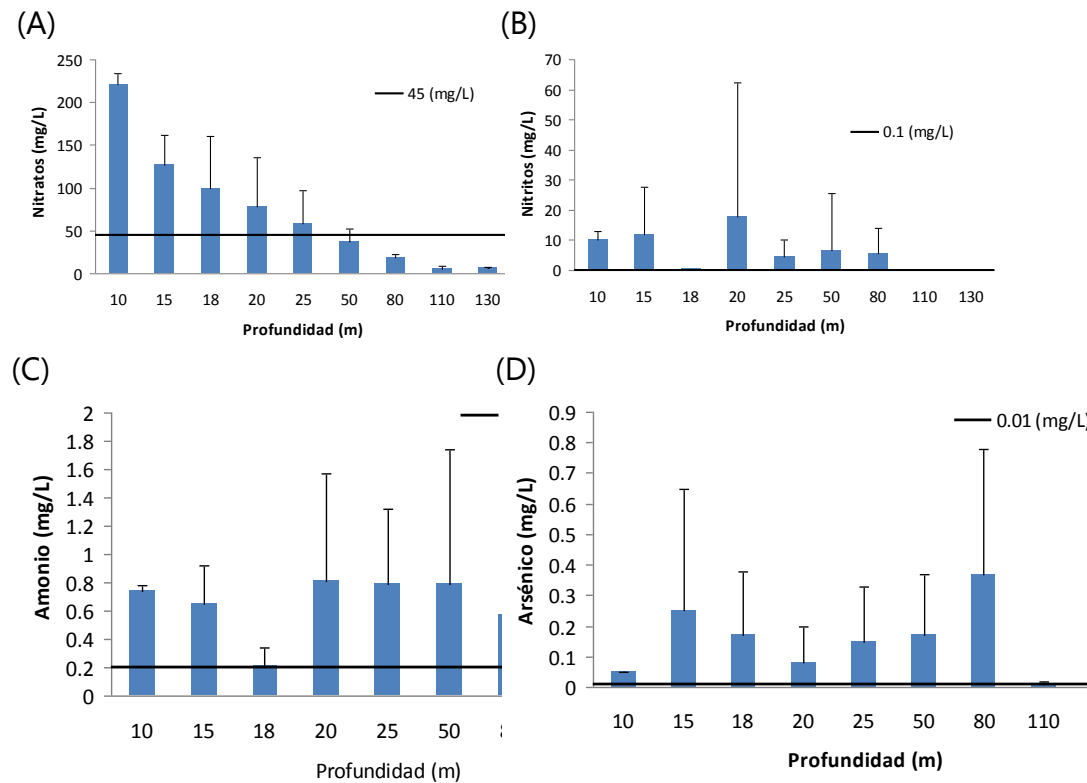
de dispersión, denominados biplots, propuestos por Gabriel, 1971 muestran las observaciones (coordenadas geográficas) y las variables (parámetros fisicoquímicos) en un mismo gráfico de tal forma que se pueden hacer interpretaciones sobre las relaciones conjuntas. El prefijo "bi" refleja las características de que tanto observaciones como variables están en un mismo plano (**Figura 3**).

Las dimensiones reducidas con las que se trabajó fueron dos: componente principal 1 (CP1) y componente principal 2 (CP2) dado que ambas permiten explicar más del 60 % (61,2 %) de la variabilidad total. El coeficiente de correlación cofenética fue de 0,919 siendo una medida del grado de reducción dimensional logrado. La CP1 y CP2 describieron el 41,7 % y el 19,5 % respectivamente. El 41,7 % de la variabilidad de las muestras fue explicada por nitritos, amonio, fluoruros, hierro y DQO, ya que estas fueron las variables de mayor proyección, es decir de mayor peso, sobre el eje CP1. A excepción de hierro, los pesos de las demás variables fueron similares por lo que sugiere contribuciones similares de cada variable a la variabilidad de las muestras. Por otro lado, el 19,5 % de la variabilidad de éstas fue explicado por nitratos y arsénico, dado que estas variables fueron las de mayor peso sobre el eje CP2.

Las coordenadas GPS de cada una de las muestras expresadas en el sistema sexagesimal fueron convertidas a un único vector obtenido de la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de las coordenadas de longitud oeste y latitud sur respectivamente. Además, para una mejor identificación en el biplot, este vector fue multiplicado por un factor de 10.

La CP1 fue definida por nitritos, amonio, fluoruros y DQO a lo largo del eje positivo y en esta región se ubicaron las coordenadas geográficas vectoriales 691,70; 692,70; 692,56;

690,57; 695,46 y 694,40. La región negativa de CP1 fue descrita por Hierro e incluyó los sitios 695,61; 692,73; 690,78; 691,91; 695,10; 694,53; 697,73; 691,88; 696,04; 696,00; 695,49; 693,79; 696,09; 691,95 y 690,00.



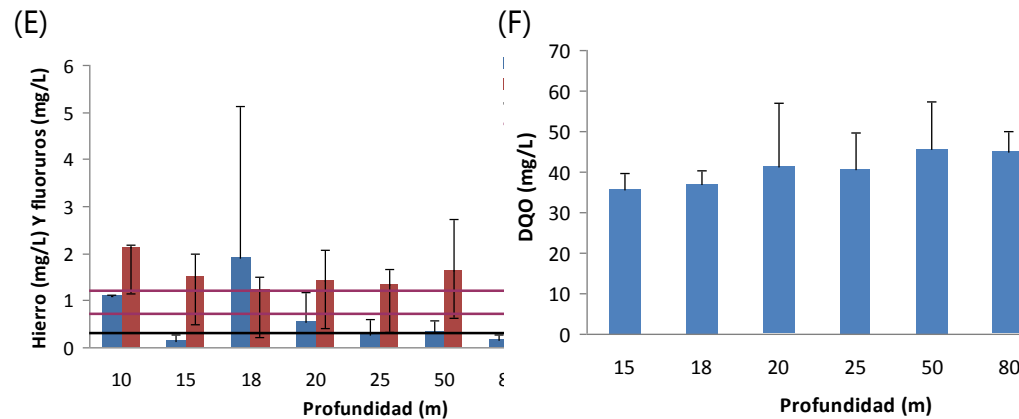


Figura 2: Concentración de: (A) nitratos, (B) nitritos, (C) amonio, (D) arsénico, (E) hierro y fluoruros, (F) DQO (mg/L) en función de la profundidad de los pozos analizados.

La CP2 fue principalmente definida por nitratos a lo largo del eje positivo. En esta región se ubicaron las coordenadas geográficas vectoriales 694,40; 692,56; 695,61; 690,78; 695,15; 691,91; 695,10 y 694,53. Por otro lado en el eje CP2 negativo solo se encontró arsénico y las coordenadas 691,88; 695,49; 696,04; 696,00; 696,79; 696,09; 691,95; 690,00; 695,46; 691,70; 692,70 y 690,57.

Los resultados muestran que el análisis de componentes principales permitió discriminar entre las diferentes muestras de aguas. Se encuentran relaciones fuertemente positivas entre nitritos, fluoruros y amonio; relaciones negativas entre el hierro y las anteriores variables y se observa además que no existe relación entre el DQO y arsénico con los nitratos y arsénico con nitritos.

El parámetro hierro no se halla asociado a ninguno de los otros parámetros y su presencia no guarda relación específica con la

posición geográfica, sin embargo está ampliamente distribuido en las zonas analizadas. Además las posiciones geográficas 694,40; 692,56 y 690,57 son similares en términos de nitratos, nitritos, amonio y fluoruros y que 691,70; 692,70 y 695,46 son similares en términos de DQO y arsénico.

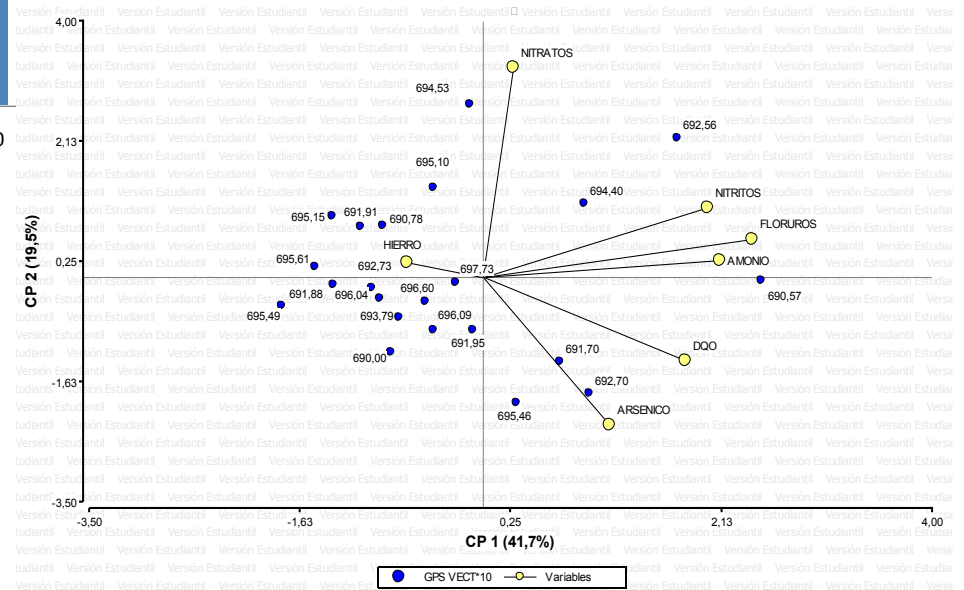


Figura 3: Análisis de componentes principales entre los parámetros fisicoquímicos de las muestras de agua y las coordenadas geográficas vectoriales.

Del estudio del contenido de nitratos, nitritos, amonio, arsénico, hierro y fluoruros en función a la ubicación geográfica realizado a partir del aplicativo Google Maps Engine, se pudo observar que

no existe una clara tendencia respecto a la concentración de los mismos respecto a la ubicación geográfica.

La **Tabla 4** resume la media, el desvío estándar, el valor máximo junto con sus coordenadas GPS correspondiente a la ubicación geográfica y la mediana de los parámetros bajo investigación llevados a cabo en este trabajo. A partir de esta **Tabla 4**, se puede observar que el valor máximo de amonio y fluoruro se encuentra en la misma muestra de agua, mientras que el valor máximo de arsénico se lo encontró en dos muestras de las 50 muestras totales analizadas.

Tabla 4: Valores estadísticos de las variables de investigación procedentes de la caracterización de las muestras de agua

	<i>Media</i>	<i>DE</i>	<i>Máximo</i>	<i>GPS del máximo</i>	<i>Mediana</i>
Arsénico	0,15	0,02	1,0	-30°42'49,44"; 61°52'58,14" -30°40'51,34"; 62°0'34,84"	- -
Nitritos	8,85	2,61	165,0	-31°04'28"; -62°0'25"	0,08
Nitratos	65,96	5,62	230,0	-30°54'00"; -62°12'00"	45,19
Amonio	0,66	0,07	3,86	-30°59'39"; -62°05'96"	0,49
Fluoruro	1,41	0,07	4,56	-30°59'39"; -62°05'96"	1,26
Hierro	0,5	0,11	7,56	-30°34'12"; -61°4,92'	0,16
DQO	27,52	3,26	69,5	-30°48,545'; -61°48,233'	32,25

CONCLUSIÓN

Se pudieron encontrar que las mejores condiciones en nitratos se encuentran a mayor profundidad de pozo. La presencia de arsénico, hierro y fluoruros se debe a un proceso geológico y por lo tanto sus valores son dispares entre un pozo y otro. De las 50 muestras de aguas subterráneas aquí analizadas se pudo observar que ninguna de ellas cumple con los requisitos para ser agua potable. Para consumo animal al igual que para consumo humano, su aceptabilidad queda excluida, mientras que para riego se necesita investigar otros parámetros a los fines de aplicar diversos índices que definan su calidad.

BIBLIOGRAFÍA

- CAA. 2012. Código Alimentario Argentino, Capítulo XII: Bebidas hídricas, agua y agua gasificada. <http://www.anmat.gov.ar>. Argentina.
- Clesceri, L. 1992. Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales (APHA-AWWA-WPCF). Madrid. 17ª Edición. , Díaz de Santos S.A.
- Costa, J.L., Massone, H., Martínez, D., Suero, E.E., Vidal, C.M. and Bedmar, F. 2002. Nitrate contamination of a rural aquifer and accumulation in the unsaturated zone. *Agricultural Water Management*, 57, 33-47.
- Gabriel, K.R. 1971 The biplot graphic display of matrices with application to principal component analysis *Biometrika*, 58, 453-467.
- Galindo, G., Sainato, C., Dapeña, C., Fernández-Turiel, J.L., Gimeno, D., Pomposiello, M.C. and Panarello, H.O. 2007. Surface and groundwater quality in the northeastern region of Buenos Aires Province, Argentina. *Journal of South American Earth Sciences*, 23, 336-345.
- Nicolli, H.B., Bundschuh, J., Blanco, M.d.C., Tujchneider, O.C., Panarello, H.O., Dapeña, C. and Rusansky, J.E. 2012. Arsenic and associated trace-elements in groundwater from the Chaco-Pampean plain, Argentina: Results from 100 years of research. *Science of The Total Environment*, 429, 36-56.
- OMS. (2003). "Ammonia in drinking-water. http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/ammonia.pdf."
- Smedley, P.L., Nicolli, H.B., Macdonald, D.M.J., Barros, A.J. and Tullio, J.O. 2002. Hydrogeochemistry of arsenic and other

inorganic constituents in groundwaters from La Pampa, Argentina. *Applied Geochemistry*, 17, 259-284.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a CONICET, Universidad Tecnológica Nacional, Universidad Nacional de Córdoba, y Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica por la ayuda económica recibida.

EXTRACTOS DE RESIDUOS OLIVÍCOLAS: CONTENIDO FENÓLICO Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Gómez P.E.¹, Segovia A.F.¹, Lorenzo M.E.¹, Bravo M.O.¹, Ribotta P.D.², Cañas M.S.³, Herrera R.E.¹

1: Facultad de Ciencias Agrarias, UNCa, Maestro Quiroga 50, Catamarca, Argentina.

2: ISIDSA, Secretaría de Ciencia y Tecnología, UNC, Juan Filloy s/n, Ciudad Universitaria, Córdoba, Argentina.

3: Facultad de Tecnología y Ciencias Aplicadas, UNCa, Ministro Dulce 70, Catamarca, Argentina.

analiticaunca@gmail.com

Resumen: En el presente trabajo se evaluó el contenido fenólico y la actividad antioxidante de extractos metanólicos y etanólicos de residuos derivados del olivo (*Olea europea* L.). Se estudiaron pulpa y carozo, obtenidos del orujo extraído durante el proceso de industrialización de aceituna para aceite en las campañas 2012 y 2013. Se cuantificaron polifenoles totales (PFT) y ortodifenoles (ODF). La actividad antioxidante se evaluó por FRAP y DPPH. Los datos se analizaron mediante ANAVA ($p=0,05$) considerando como factores campaña, material y solvente. Las medias de PFT variaron entre 13572,38 ppm en EPE 2013 (extracto etanólico de pulpa 2013) y 1580,87 ppm en ECM 2013 (extracto metanólico de carozo 2013) y las de ODF entre 7730,39 ppm y 1047,90 ppm para EPE 2012 y ECM 2013, respectivamente. La concentración en PFT, ODF y la relación ODF/PFT de los extractos etanólicos resultó significativamente mayor que la de los metanólicos, tanto en pulpa como en carozo. El rendimiento

de PFT y ODF en pulpa resultó significativamente superior al de carozo en ambas campañas y solventes. Frente al DPPH y al FRAP los extractos de pulpa resultaron significativamente más activos que los de carozo, sin significancia en la diferencia por solvente para un mismo residuo.

Palabras Clave: Olivo, residuos, extractos fenólicos, actividad antioxidante.

Abstract: In this study the phenolic content and the antioxidant activity of methanolic and ethanolic extracts, taken from olive waste (*Olea europea* L.) were evaluated. Pulp and pits, obtained from pomace extracted during the olive oil industrialization process were studied (2012 and 2013 campaigns). Total polyphenols (PFT) and orthodiphenols (ODF) were quantified. The antioxidant activity was evaluated by FRAP and DPPH methods. Data were analyzed by ANOVA ($p = 0.05$) considering as factors material, solvent and campaign. PFT media values ranged from 13572.38 ppm in EPE 2013 (ethanol pulp extract 2013) and 1580.87 ppm in ECM 2013 (methanol pit extract 2013). ODF media values range between 7730.39 ppm and 1047.90 ppm in EPE 2012 and ECM 2013, respectively. PFT and ODF concentrations and ODF/PFT relation of ethanolic extracts was significantly greater than that of the methanolic not only in pulp but also in pit. PFT and ODF performance in pulp was significantly higher than in pit in both campaigns and solvents. As regards DPPH and FRAP, pulp extracts were significantly more active than pit extracts, with a meaningless solvent difference for the same waste.

Keywords: olive, waste material, phenolic extracts, antioxidant activity

INTRODUCCIÓN

Los residuos de la industria aceitera del olivo representan un problema ambiental importante ya que se generan grandes cantidades en cortos períodos de tiempo (Roig 2006). Argentina se ubica como el principal productor de aceite de oliva de América del Sur, posee más de 100.000 hectáreas implantadas con olivos distribuidas en Catamarca (24000 ha), La Rioja (20500 ha), San Juan (19500 ha), Mendoza (17500 ha), Córdoba (5000 ha), Buenos Aires (2500 ha) y Rio Negro (600 ha); el 65% de las cuales se destina para aceite (COI 2014).

En la campaña 2011 se produjeron alrededor de 200000 t de aceite de oliva a nivel nacional y se generaron simultáneamente cerca de 800000 t de alperujo, un material constituido por la pulpa, piel, carozo y agua de vegetación de la aceituna después de su industrialización, por el método de dos fases. El alperujo contiene elevada humedad (55-70%) que le otorga una consistencia pastosa que dificulta su traslado; contiene altas concentraciones de fenoles, lípidos y ácidos orgánicos que le confieren un carácter fitotóxico y biotóxico (Morillo Pérez 2007) que retardan su biodegradabilidad y en general complican su manejo. Estos residuos también contienen recursos valiosos tales como una gran proporción de materia orgánica y una amplia gama de nutrientes que podrían ser reutilizados. En la zona mediterránea los residuos industriales del olivo se emplean con distintos fines: la obtención del aceite de orujo mediante extracción del remanente graso de los residuos con solventes orgánicos, la combustión, la gasificación, la digestión anaerobia, el compostaje, la fermentación sólida, la preparación de alimento

balanceado para animales (Fernández-Bolaños 2006), entre otras aplicaciones. En Argentina cada vez son más las investigaciones orientadas al estudio del alperujo, referidas a la evaluación de su ecotoxicidad (Hanna et al. 2011), su comportamiento como abono orgánico (Aybar et al. 2012), su utilización en compostaje (Pozzi et al. 2010), elaboración de lombricompost (Hamman et al. 2006) y el empleo del carozo para preparación de carbón activado (Filippin et al. 2006). En la provincia de San Juan una empresa olivícola aprovecha la biomasa proveniente de los restos de poda y el alperujo para generar el 50% de la energía utilizada en la planta extractora y en una finca de 600 ha de olivos (Puga 2014). La Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Provincia de San Juan creó además una planta de compostaje que procesa residuos sólidos urbanos, restos de poda de arbolado público y residuos orgánicos de actividades agroindustriales locales (INTA 2014). En el oeste catamarqueño otro emprendimiento prepara un "té de compost" que utiliza con fines fitosanitarios.

Las investigaciones más innovadoras en esta temática están orientadas a extraer los compuestos con actividad antioxidante de los residuos agroindustriales del olivo (Fernández Bolaños 2006). El estudio de sustancias con propiedades antioxidantes es prioritario por el papel que desempeñan para evitar el deterioro de productos alimentarios, preparados farmacéuticos y cosméticos (Sherwin 1985). Debido a que los antioxidantes sintéticos están bajo sospecha de ser perjudiciales para la salud (Dwyer 1996; Venereo Gutiérrez 2002), en la actualidad existe un gran interés por la búsqueda de sustancias alternativas, preferiblemente de origen biológico. Muchos residuos agroindustriales son potenciales fuentes de antioxidantes naturales, precisamente en los últimos años ha crecido el interés

por el estudio de los principios activos presentes en los residuos de la industria del olivo, prueba de esto son las numerosas publicaciones que hay al respecto (Ozkaya 1999, Guinda, 2002, Pérez-Bonilla 2003, Altarejos 2005, Gómez 2009).

A nivel local, Gómez et al. (2013) trabajando sobre residuos agroindustriales de olivos concluyeron que extractos etanólicos de hoja, madera y alperujo de la variedad Arbequina son fuentes naturales de fitofenoles con propiedades antioxidantes y que la actividad de los extractos en orden decreciente es: hoja > madera > alperujo. En la actualidad, y debido a que el alperujo es el residuo olivícola que más problemas ambientales produce, el equipo de investigación está profundizando el estudio sobre este material. La propuesta de manejo consiste en tratar al alperujo como materia prima y no como residuo, cambio conceptual que imparte originalidad a la metodología planteada y explica que el estudio se realice sobre alperujo recién obtenido del proceso industrial, evaluando metodologías extractivas, sobre las distintas fases del alperujo fresco: pulpa, carozo y agua de vegetación. El contenido fenólico del agua de vegetación y su aptitud para su re-utilización en la propia industria y/o, previo tratamiento, para usos agrícolas, ya fue analizada por Gómez et al. (2014). Dando continuidad al estudio, el objetivo del presente trabajo consiste en evaluar el contenido fenólico y la actividad antioxidante de extractos, metanólicos y etanólicos, de pulpa y carozo separados del alperujo proveniente de la molienda de aceituna para la obtención de aceite por el método de dos fases.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con muestras de carozo y pulpa de *Olea europea L.* variedad Arbequina obtenidas a partir de muestras de orujo fresco recolectado durante el proceso de industrialización de las campañas 2012 y 2013, en la Planta Piloto "Olivares del Valle" de la Cooperativa 12 Olivos y la Universidad Nacional de Catamarca, ubicada en el complejo industrial El Pantanillo, Valle Central, Catamarca.

Las muestras de orujo se recolectaron a la salida de la centrífuga horizontal en recipientes plásticos perfectamente identificados y se almacenaron a 4-5 °C. Posteriormente se separaron las fracciones pulpa y carozo por triada.

Los extractos se obtuvieron por triplicado a partir de 3 gramos de muestra liofilizada y molida con adición de 30 mL de etanol ó metanol, según el caso. Se dejó macerar 24 h, se filtró y se repitió el procedimiento sobre el residuo recuperado. Finalmente se enrasó a 100 mL con solvente en matraz aforado y rotulado. Se cuantificaron por triplicado polifenoles totales (PFT) por Folín-Ciocalteu a 725 nm y ortodifenoles (ODF) con molibdato de sodio a 370 nm. Los resultados de ambos parámetros se expresaron en mg de ácido cafeico/kg de muestra seca.

La actividad antioxidante se evaluó mediante el poder reductor de los extractos y su capacidad de atrapar radicales libres. El poder reductor de los extractos sobre el catión Fe^{+3} se cuantificó por el método FRAP descrito por Benzie y Strain (1996) empleando 2,5 mL de la solución 2,4,6-tripiridil-s-triazina; 10 μ M en HCl 40 mM; 2,5 mL de $FeCl_3$ 20 μ M y 25 mL de buffer acetato 0,3 μ M a un pH de 3.6; y el resultado se expresó en μ mol de trolox por gramo de muestra. La capacidad de captura de

radicales libres de los extractos se midió por el método del DPPH (Rojano 2008) determinando el porcentaje de inhibición de radicales libres a los 15 min de reacción, por disminución de la absorbancia a 515 nm. Los ensayos se realizaron por triplicado. Los resultados se expresaron como el valor medio \pm la desviación estándar y se analizaron mediante ANAVA ($p=0,05$) (Infostat 2013), considerando como factores campaña, material y solvente para cada variable respuesta.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudio preliminar de la distribución de los compuestos fenólicos en los diferentes materiales durante el proceso extractivo.

A modo exploratorio se realizaron extracciones metanólicas de los compuestos fenólicos del aceite, pulpa (EPM), carozo (ECM) y agua de vegetación de un mismo proceso extractivo para ambas campañas, con la finalidad de evaluar la distribución de los polifenoles en los materiales provenientes de la molienda de aceituna por el método de dos fases. En la **Tabla 1** se presentan las medias de dos repeticiones del contenido fenólico en los extractos metanólicos y los porcentajes de distribución en cada una de las fases para las muestras de los años 2012 y 2013.

Tabla 1: Distribución de los compuestos fenólicos en aceite, pulpa, carozo y agua de vegetación efectuando extracciones metanólicas.

<i>Muestra</i>	<i>Año</i>	<i>PFT</i> <i>(mg ácido cafeico/kg muestra)</i>	<i>% Total</i>
<i>EPM</i>	2012	4589,86	68,44
<i>ECM</i>	2012	1730,25	25,80
<i>Aceite</i>	2012	93,80	1,40
<i>Agua vegetación</i>	2012	292,51	4,36
Total 2012		6706,41	100,00
<i>EPM</i>	2013	6363,92	77,95
<i>ECM</i>	2013	1580,87	19,36
<i>Aceite</i>	2013	126,27	1,55
<i>Agua vegetación</i>	2013	93,55	1,15
Total 2013		8164,62	100,00

En ambas campañas se observa que la pulpa retiene la gran mayoría de los compuestos fenólicos, al menos los solubles en metanol. Teniendo en cuenta las dos campañas, la fracción de pulpa y de carozos presentaron valores promedios de 73,20 % y 22,60 % de los compuestos fenólicos, respectivamente. Es decir que en los componentes del "orujo" se encontró el 95,8 % de los compuestos fenólicos de la aceituna. El agua de vegetación y el aceite solo retuvieron el 2,75 % y el 1,47 %, respectivamente. La primera conclusión a la que se arribó en el presente trabajo fue que el agua de vegetación contiene menos compuestos fenólicos disueltos que lo que se preveía en función de su naturaleza hidrofílica. De acuerdo a estos primeros resultados, se estima que separando el agua de vegetación del resto del material

sólido del alperujo se obtendrá una fase sólida menos húmeda y una fase acuosa que según Gómez et al. (2014), es apta para su re-utilización en la propia industria o, previo tratamiento, para usos agrícolas. Estos resultados motivaron que se decida avanzar el presente estudio sobre las fases del residuo más ricas en compuestos fenólicos: la pulpa y el carozo, de acuerdo al diseño experimental mostrado en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Diseño de experimento: extracción de compuestos polifenólicos.

<i>Residuo</i>	<i>Solventes</i>	
	<i>Etanol 50%</i>	<i>Metanol</i>
<i>Pulpa (del orujo)</i>	<i>EPE</i>	<i>EPM</i>
<i>Carozo (del orujo)</i>	<i>ECE</i>	<i>ECM</i>

Contenido fenólico y ortodifenólico de extractos orgánicos de pulpa y carozo.

Las medias de polifenoles totales (PFT) y orto-difenoles (ODF) y sus desviaciones estándar de extracciones etanólicas y metanólicas de pulpa y carozo, analizadas por triplicado, se presentan en la **Tabla 3**.

Tabla 3: Contenido en PFT y ODF de extractos etanólicos y metanólicos de pulpa y carozo para las campañas 2012 y 2013.

<i>Extractos</i>	<i>Año</i>	<i>PFT</i>	<i>ODF</i>
		<i>(mg ácido cafeico /kg muestra)</i>	
<i>EPE</i>	2012	11334,86 ± 348,98 d	7730,39 ± 125,23 d
<i>EPE</i>	2013	13572,38 ± 108,02 e	7026,85 ± 554,19 cd
<i>ECE</i>	2012	1829,26 ± 123,13 a	1816,38 ± 70,95 a
<i>ECE</i>	2013	1827,15 ± 120,89 a	1586,59 ± 47,03 a
<i>EPM</i>	2012	4589,86 ± 290,81 b	6323,04 ± 106,48 bc
<i>EPM</i>	2013	6363,92 ± 285,31 c	5018,10 ± 753,30 b
<i>ECM</i>	2012	1730,25 ± 238,93 a	1359,53 ± 51,88 a
<i>ECM</i>	2013	1580,87 ± 313,97 a	1047,90 ± 68,41 a

Para un mismo parámetro, medias con la misma letra no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Los extractos de pulpa presentaron un nivel de PFT significativamente mayor en el año 2013 para ambos solventes, posiblemente asociado a la incorporación de agua en el proceso de industrialización en la campaña 2013 que pudo haber arrastrado los compuestos fenólicos hacia la pulpa. En los extractos de carozo la campaña no influyó estadísticamente en el contenido de PFT ni de ODF.

El rendimiento de PFT en pulpa resultó significativamente superior al de carozo en ambas campañas, tanto en los extractos etanólicos (un 83,86% en 2012 y un 86,53 % en 2013) como en los metanólicos (un 62,30% en 2012 y un 75,16 % en 2013). El contenido de ODF en pulpa también fue significativamente

superior al de carozo en los dos años en estudio, en los extractos etanólicos (un 76,50% en 2012 y un 77,42 % en 2013) y en los extractos metanólicos (un 78,10% superior en 2012 y un 79,12 % mayor en 2013).

Se observa que el poder extractivo del etanol acuoso resultó mayor que el del metanol para los PFT y los ODF, tanto de pulpa como de carozo, en ambas campañas. En el caso de la pulpa las diferencias extractivas de los PFT supera el 50 % en los dos años analizados, mientras que en carozo alcanzó el 13,5 %.

La mayor riqueza en PFT y ODF de la pulpa y el mejor poder extractivo del etanol acuoso sobre los compuestos fenólicos presentes en el orujo de aceituna, se visualiza claramente en la **Figura 1** en el que se presentan los valores promedios de la concentración fenólica y ortodifenólica por extracto, para los dos años considerados.

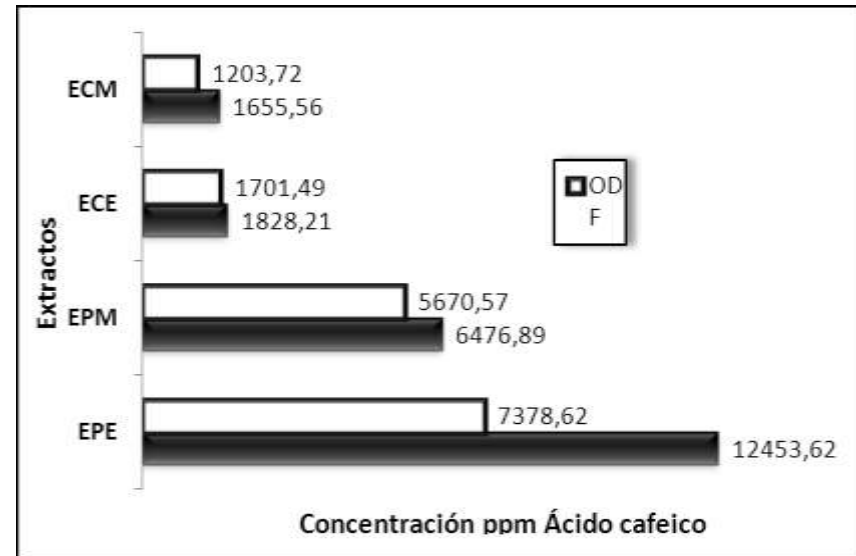


Figura 1: Rendimientos en PFT y ODF de los extractos ECM, ECE, EPM y EPE

Gómez et al. (2009) trabajando sobre extractos etanólicos de restos de poda de olivos de Arbequina concluyeron que el contenido fenólico y ortodifenólico de hoja es significativamente superior a los de madera del olivo (27540 contra 19635 mg de ácido cafeico /kg de muestra) y también en ODF (18130 contra 7422 mg de ácido cafeico /kg de muestra). La comparación de estos valores con los registrados en la presente investigación nos permite dar el siguiente orden decreciente de la riqueza polifenólica y ortodifenólica de los extractos etanólicos de los diferentes residuos agroindustriales del olivo hoja> madera>pulpa>carozo. Los valores medios de ODF en extractos

etanólicos de madera y pulpa resultaron próximos entre sí y cercanos a los 7400 mg de ácido cafeico /kg de muestra.

Dentro de los compuestos fenólicos, los antecedentes atribuyen la mayor actividad antioxidante a los ortodifenoles (De la Torre Carbot 2007, Oliveras López 2005), razón por la cual es interesante evaluar el porcentaje de ODF en relación al total de los fenoles cuantificados. Un 87,55 % de los fenoles extraídos de la pulpa con etanol son ODF, mientras que para el caso del metanol/pulpa el porcentaje de ODF desciende a 59,25 %. En el extracto etanólico de carozo un 93,07 % de los PFT son ODF, mientras que con metanol el porcentaje es de 72,71 %. Los extractos de pulpa presentan mayor cantidad de ODF que los de carozo y el etanol extrae, en pulpa y carozo de aceituna, mayor porcentaje de ODF que el metanol. A pesar de que ambos solventes son inflamables, el mejor comportamiento extractivo del etanol frente a los residuos agroindustriales del olivo es muy favorable desde el punto de vista industrial y medio ambiental, debido a la menor toxicidad del etanol.

Actividad antioxidante de extractos etanólicos y metanólicos de pulpa y carozo

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos se debe a su capacidad para eliminar los radicales libres, donar átomos de hidrógeno o electrones, o quelar cationes metálicos (Amarowicz 2004). Al evaluar la actividad antioxidante de extractos debemos considerar el sinergismo existente entre los principios activos afines al solvente extractor, ya que no se trata de un compuesto puro que actúa de manera aislada, sino de una matriz compleja en la que los distintos componentes interactúan, potenciándose ó inhibiéndose. Varios métodos se han desarrollado

recientemente para medir la capacidad antioxidante total de alimentos y bebidas (Pellegrini et al. 2000), debido a que los compuestos antioxidantes pueden actuar a través de diferentes mecanismos y ningún método puede evaluar completamente la capacidad antioxidante total, se busca complementar la información brindada por cada uno. Por ese motivo para el presente estudio se decidió medir el potencial reductor de los extractos sobre el Fe^{+3} a través del ensayo del FRAP y la actividad antirradicalaria, por el método del DPPH, que tiene la ventaja de no verse afectado por ciertas reacciones secundarias de polifenoles, tales como la quelación de iones metálicos y la inhibición de la enzima, de modo que estaría asociado fundamentalmente a la capacidad de las especies de un extracto de capturar radicales libres.

En la **Tabla 4** se presenta la actividad antioxidante medida por FRAP (expresada $\mu\text{mol trolox/g}$ muestra) y por DPPH (expresada como PI a los 15 min de reacción) de extracciones etanólicas y metanólicas de pulpa y carozo y sus diferencias estadísticas.

Tabla 4: Actividad antioxidante de extractos etanólicos y metanólicos de pulpa y carozo.

Extracto	Año	FRAP ($\mu\text{mol Trolox /g}$ muestra \pm DS)	DPPH (PI a 15 min \pm DS)
EPE	2012	754,03 \pm 182,52 b	67,12 \pm 1,54 d
EPE	2013	1970,86 \pm 395,07 d	74,15 \pm 2,15 e
ECE	2012	394,49 \pm 48,78 a	22,35 \pm 0,83 b
ECE	2013	293,43 \pm 26,84 a	13,25 \pm 0,74 a
EPM	2012	672,24 \pm 194,83 b	51,92 \pm 0,66 c

EPM	2013	1006,96±181,80 c	80,97±1,82 f
ECM	2012	222,86±50,85 a	16,00±1,17 a
ECM	2013	233,68±18,69 a	15,29±3,32 a

Para un mismo parámetro, medias con la misma letra no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

La campaña no influyó significativamente sobre la actividad reductora, medida por el FRAP, de los extractos de carozo. Por su parte los extractos de pulpa fueron sensibles a este factor; el EPE 2013 fue un 61,74 % más reductor que el EPE 2012 y los EPM 2013 fueron un 33,24 % más activos que en 2012.

La actividad antirradicalaria, medida por DPPH, se vio afectada estadísticamente por la campaña en todos los extractos, a excepción de la de los extractos metanólicos de carozo. En pulpa, las diferencias favorecieron a los extractos 2013 y en el ECE al 2012.

Los extractos de pulpa presentaron una actividad antioxidante significativamente mayor que los de carozo frente al FRAP y al DPPH en ambos solventes y en las dos campañas.

Las máximas diferencias en las actividades antioxidantes de los extractos de pulpa y carozo se registraron en la campaña 2013. En los extractos etanólicos la capacidad reductora fue un 85,11 % superior y la actividad antirradicalaria un 82,13 % mayor en los extractos de pulpa que en los de carozo. En los extractos metanólicos el comportamiento fue similar aunque con actividades y diferencias algo menores. Este comportamiento resulta coherente con el nivel significativamente mayor de PFT y ODF de los extractos de pulpa 2013 para ambos solventes, asociado a la incorporación de agua en el proceso de

industrialización de ese año que arrastró parte de los compuestos fenólicos del fruto hacia los residuos de la industria. Los extractos etanólicos presentaron, en general, mayor actividad reductora frente al FRAP que los extractos metanólicos, tanto en pulpa como en carozo, resultados que evidencian la mayor capacidad del etanol para extraer compuestos reductores, de la pulpa y el carozo del orujo de la aceituna. La diferencia máxima registrada fue de 48,91 % en los extractos de pulpa de la campaña 2013.

El efecto de los solventes sobre la actividad antirradicalaria presentó un comportamiento diferenciado por campaña. En el año 2012, sin agregado de agua en el proceso de amasado, los extractos etanólicos mostraron mayor capacidad de atrapar radicales libres que los metanólicos, tanto en pulpa (22,66 %) como en carozo (28,41%). En la campaña 2013, la extracción con metanol lixivió más compuestos antirradicalarios de la pulpa (8,42 %) y del carozo (13,34 %) que el etanol. Podríamos suponer que la diferencia en el proceso de elaboración tuvo incidencia sobre el coeficiente de reparto de los compuestos con actividad antirradicalaria de la materia prima en las diferentes fases en que se separa a la salida de la centrífuga horizontal.

El análisis de correlación de Pearson encontró alta correlación entre las capacidades reductoras y antirradicalarias de los extractos (0,81) y un coeficiente de correlación de 0,87 entre PFT y FRAP y entre PFT y DPPH. Por su parte la correlación entre el contenido de ortodifenoles es mayor con la capacidad antirradicalaria (0,91) que con la capacidad reductora (0,75) lo que se halla perfectamente de acuerdo con los antecedentes bibliográficos (De la Torre Carbot 2007, Oliveras López 2005), que responsabilizan de la capacidad de atrapar radicales libres a los compuestos ortodifenólicos.

CONCLUSIONES

La pulpa proveniente del alperujo contiene alrededor del 80 % de los compuestos fenólicos y ortodifenólicos presentes en este material y sus extractos presentan mayor actividad antioxidante que los de carozo. Complementando los resultados obtenidos en esta investigación con los registrados al evaluar los restos de poda se puede indicar el siguiente orden decreciente para la riqueza polifenólica de los residuos agroindustriales del olivo: hoja> madera>pulpa>carozo.

El mayor poder extractivo y la menor toxicidad del sistema etanol-agua 50%, comparado con el metanol, sumado a la mayor capacidad para inhibir radicales libres y al mayor poder reductor de los extractos etanólicos de pulpa y de carozo, confirman la conveniencia de este alcohol para extraer compuestos fenólicos y ortodifenólicos de los residuos industriales del olivo. Estos resultados son amigables tanto con la industria como con el medio ambiente.

En función de lo anteriormente expuesto los residuos agroindustriales del olivo pueden ser considerados fuentes naturales, abundantes y completamente renovables de compuestos fenólicos con actividad antioxidante y la extracción etanólica es una alternativa factible de implementar.

Para contribuir a un aprovechamiento integral del alperujo se sugiere extraer en primer lugar los compuestos fenólicos logrando, de manera simultánea, otorgarle valor agregado al subproducto y liberarlo de los compuestos activos que retardan el proceso de compostaje u otros tratamientos, facilitando de este modo su manejo posterior. La metodología propuesta evita,

por otra parte, el vertido de contaminantes al suelo por lo que a la vez promueve una producción más limpia.

BIBLIOGRAFÍA

Altarejos J, Salido S, Pérez Bonilla M, Linares Palomino P, van Beek T, Nogueras, M. 2005. Preliminary assay on the radical scavenging activity of olive wood extracts. *Fitoterapia*, 76: 348-351.

Amarowicz R. 2004. Free- radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Journal of Food Chemistry*, 84:551-562

Aybar V, Gómez P, Bravo M, Herrera R, Vergara Avalos L, Andrada C. 2012. Efecto de la utilización del alperujo como abono orgánico en el comportamiento del cultivar Coratina. *Revista del CIZAS*, 12-13 (1-2): 19-25.

Benzie I, Strain J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239 (1): 70-76.

Consejo Oleícola Internacional. COI. 2014. NEWSLETTER: Mercado Oleícola, Octubre 2014. En: <http://www.internationaloliveoil.org/news/view/666-year-2014-news/539-newsletter-mercado-oleicola-octubre-2014>.

De la Torre Carbot K. 2007. Efecto del consumo del aceite de oliva sobre la composición de las lipoproteínas de baja densidad en individuos de diferentes países europeos. Tesis Doctoral. Universidad de Barcelona. Dwyer J. 1996. Is there a need to change the America Diet?: Dietary phytochemicals in cancer

prevention and treatment. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 40: 192-193.

Fernández Bolaños J, Rodríguez G, Rodríguez R, Guillén R, Jiménez A. 2006. Potential use of olive by-products. *Grasas y Aceites*, 57(1): 95-106

Filippín A, Pozzi M, Petek C, Matías C, Iriarte A. 2006. Obtención de carbón activado a partir de residuos oleícolas. En actas del III Congreso Iberoamericano de Ambiente y Calidad de Vida. Catamarca. Gómez E y Salim Rosales C. 2009. Actividad antioxidante de extractos de residuos de poda de olivos -*Olea europaea* L.- cultivar Arbequina procedentes del Valle Central de Catamarca. Tesis de grado. Universidad Nacional de Catamarca.

Gómez P, Bravo M, Salim Rosales C, Gómez E, Ribotta P. 2013. Obtaining phenol compound from agroindustrial remains. En actas de la VI International Conference on Polyphenols and Health. Buenos Aires. Gómez P, Segovia A, Lorenzo M, Bravo M, Herrera R, Ribotta P, Cañas M. 2014. Características físico-químicas del agua de vegetación proveniente de la molienda de arbequina para la obtención de aceite. *Revista del CIZAS*, en prensa.

Guinda A, Lanzón A, Ríos J, Albi T. 2002. Aislamiento y cuantificación de los componentes hoja del olivo: Extracto de hexano. *Grasas y Aceites*, 53: 419-422.

Hammann A, Filippín A, Pozzi M. 2011. Determinación de Ecotoxicidad del alperujo mediante bioensayos de germinación y crecimiento de *Lactuca sativa*. *Huayllu-Bios*, 5.

Hammann A, Segura H, Filippín A, Casimiro S, Matías C. 2006. Dinámica Poblacional de Lombrices de Tierra (*Eisenia Foetidae*) en el compostamiento del orujo y su efecto en las características físico-químicas del mismo. En actas del III

Congreso Iberoamericano de Ambiente y Calidad de Vida. Catamarca.

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. INTA. 2014. Aprovechamiento agrícola de residuos de la industria extractiva de aceite de oliva. En: <http://inta.gob.ar/noticias/aprovechamiento-agricola-de-residuos-de-la-industria-extractiva-de-aceite-de-oliva/>.

Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26 (2): 211-219.

Morillo Pérez J. 2007. Biorremediación del alpeorujo: estudio de la microbiota asociada y producción del exopolisacárido jamilano. Tesis Doctoral. Universidad de Granada.

Oliveras López MJ. 2005. Calidad del aceite de oliva virgen extra. Antioxidantes y función biológica. Tesis Doctoral. Universidad de Granada.

Ozkaya M, Celik M. 1999. The effects of various treatments on endogenous carbohydrate content of cuttings in easy-to-root and hard-to-root olive cultivars. *Acta Horticultura (ISHS)* 474:51-54.

Pérez Bonilla M, Salido S, Linares P, van Beek T, Altarejos J, Nogueras M, Sánchez A. 2003. La madera de olivo como nueva fuente de antioxidantes naturales. En actas del Foro de la tecnología oleícola y la calidad. Jaen.

Pozzi M, Filippín A, Matías C, Hammann A. 2010. Posibilidad de uso del Alpechín en Fertilización de Tierras Agrícolas. *Información Tecnológica*, 21 (4): 117-123.

Puga B. 2014. Bioenergía: Produciendo energía a partir del olivo. *Cima*, 201: 16-21.

Roig A, Cayuela M, Sánchez Monedero M. 2006. An overview on olive mill wastes and their valorization methods. *Waste Management*, 26: 960-969.

Rojano B, Saez J, Schinella G, Quijano J, Vélez E, Gil A. 2008. Experimental and theoretical determination of the antioxidant properties of isoespintanol (2-isopropyl-3,6-dimethoxy-5-methylphenol). *Journal of Molecular Structure*, 877 (1-3): 1-6.

Sherwin, E. 1985. Synthetic antioxidants for fats and oils. En: Min, DB, Smouse, TH editores. *Flavor Chemistry of Fats and Oils*. American Oil Chemists' Society. Champaign: Illinois.pag. 155-173.

Venero Gutiérrez J. 2002. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 2 (31):126-133.

AGRADECIMIENTOS

La presente investigación se lleva a cabo en el marco del proyecto 02/H103 financiado por la SeCyT de la UNCa y el PFIP 047 financiado por la SCTIP del MinCyT de la Nación.

DETERMINACIÓN DE FOSFOGLICÉRIDOS EN LECITINA DE GIRASOL MEDIANTE ³¹P-NMR: DESARROLLO DE UNA TÉCNICA ANALÍTICA PARA SU CUANTIFICACIÓN

Goñi M.L.¹, Constenla D.T.¹, Van der Meeren P.², Carelli A.A.¹

1: PLAPIQUI-UNS-CONICET, Camino La Carrindanga km 7, 8000, Bahía Blanca, Argentina.

2: PAINT Group, Ghent University, Coupure Links 653, B-9000 Ghent, Belgium.

lauragoni@gmail.com

Resumen: El objetivo general de este trabajo fue desarrollar una metodología analítica utilizando ³¹P-NMR para la determinación cuali-cuantitativa de fosfolípidos (PLs) y lisofosfolípidos (LPLs) en lecitina cruda de girasol y sus productos modificados enzimáticamente en medio acuoso. Con ese propósito, se estudió la influencia de cuatro variables en la determinación: el uso de detergentes (Deoxicolato, DC) para solubilizar la muestra, el uso de complejantes de calcio (Na-EDTA) para mejorar la resolución de los picos del espectro, el pH de medición y el estándar interno a utilizar (IS). Se encontró que preparando la muestra en una concentración del 2% m/m de lecitina en solución acuosa con 10% DC, 2mM Na-EDTA, a pH = 8 se obtiene soluciones claras y estables que al ser analizadas por ³¹P-NMR utilizando PMG (n-fosfonometil glicina) como IS se logra obtener espectros con muy buena resolución y una exacta cuantificación. Esta técnica permite determinar de manera adecuada la composición de PLs y LPLs, en lecitina cruda nativa

(sin modificar) y sus productos de hidrólisis en medio acuoso sin necesidad de purificación previa de la muestra ni de la realización de curvas de calibrado para cada especie.

Palabras Clave: ³¹P-NMR, fosfolípidos, lisofosfolípidos, lecitina de girasol

Abstract: The general aim of this work was to find an analytical methodology using ³¹P-NMR to determine phospholipids (PLs) and lysophospholipids (LPLs) on sunflower crude lecithin and its enzymatically modified products in aqueous medium. For that purpose the effect of detergents (Deoxycholate, DC) and calcium complexing (Na-EDTA) was studied for sample preparation. The effect of pH and the internal standard (IS) used was also considered. The results showed that an aqueous solution containing 2% lecithin, 10% DC and 2mM EDTA at pH=8 rendered transparent and stable solutions that analyzed by ³¹P-NMR using PMG (n-phosphonomethyl glycine) as IS gave the best resolution in spectra and an accurate quantitation. This technique allows the determination of PLs, LPLs, and GPLs composition on native and modified sunflower crude lecithin in aqueous medium with no need of either previous purification steps or the use of individual calibration curves.

Key Words: ³¹P-NMR, phospholipids, lysophospholipids, sunflower lecithin

INTRODUCCIÓN

La lecitina cruda, un subproducto del desgomado de aceites vegetales, es una mezcla compleja de fosfolípidos (PLs), triglicéridos, (TGs), glicolípidos (GLs) y carbohidratos (CHs). Dependiendo de su composición, este producto posee diferentes características emulsionantes y estabilizantes, pudiendo ser utilizado en una gran variedad de aplicaciones en la industria alimentaria y farmacéutica (Braverman 1999, Wendel 2000). Por otro lado, estas lecitinas pueden ser modificadas mediante hidrólisis enzimática, obteniéndose productos ricos en lisofosfolípidos (LPLs), con características emulsionantes específicas como por ejemplo: mejores propiedades emulsionantes o/w; mayor estabilidad de la emulsión en condiciones ácidas y en presencia de sales; capacidad mejorada de ligar proteínas y almidones; excelentes propiedades desmoldantes (Cabezas *et al.* 2012) Sin embargo, a pesar de que la lecitina es un aditivo utilizado en un amplio rango de aplicaciones, aún es difícil encontrar datos sistemáticos acerca de las propiedades emulsionantes y su correlación con la composición de la lecitina. Por ello es muy importante contar con metodologías analíticas que permitan conocer la composición de los diferentes tipos de lecitina y lograr correlacionar la composición con sus propiedades surfactantes (Nguyen *et al.* 2014)

En la **Figura 1** se muestra la reacción de hidrólisis de los PLs, utilizando Lecitase® Ultra, una fosfolipasa con actividad PLA₁. Los productos de hidrólisis (1-LPL) pueden sufrir el proceso conocido como acil-migración, generándose el 2-LPL, el cual

puede ser atacado nuevamente por la enzima para dar un glicerofosfolípido (GPL), compuesto sin características surfactantes. Por lo tanto en este tipo de modificación de lecitinas se desea la maximización de LPLs, evitando que la reacción avance a GPLs. Este hecho se suma a lo dicho previamente, de la necesidad de contar con técnicas analíticas adecuadas para la determinación cuali-cuantitativa de PLs y LPLs en las lecitinas nativas y modificadas.

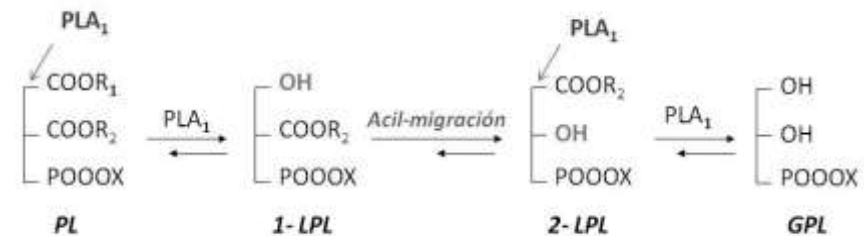


Figura 1: Reacción de hidrólisis de fosfolípidos en la modificación enzimática de lecitinas utilizando Lecitase® Ultra (PLA₁) como catalizador.

Los PLs y LPLs de las lecitinas de diferentes fuentes han sido analizados por varias metodologías cromatográficas durante décadas (TLC, GC, HPLC). Sin embargo, estas técnicas no son del todo adecuadas para la cuantificación simultánea de PLs y LPLs o la identificación de todas sus clases, ya que involucran extensos procedimientos de preparación de muestra y determinación, y presentan baja selectividad y especificidad de detección (van Nieuwenhuyzen y Tomás 2008). Una de las técnicas más recomendadas en la actualidad para la determinación de PLs y

sus formas hidrolizadas es la espectroscopía de resonancia magnética nuclear de fósforo (^{31}P -NMR), ya que no requiere extracciones o separaciones previas, y mediante ella, se logran identificar y cuantificar todas las especies de PLs, en una mezcla compleja (Diehl 2001, Frank 2013). Las lecitinas crudas e hidrolizadas son mezclas complejas de compuestos polares y no polares, por lo que deben encontrarse las condiciones apropiadas para la preparación de las muestras, previamente a la determinación. Algunos autores (London y Feigenson 1979) sugieren que el uso de detergentes permite solubilizar tanto los lípidos polares como los no polares, evitando una etapa de extracción o purificación de los PLs y LPLs previa a la determinación. El uso de detergentes como el deoxicolato (DC) permitiría obtener muestras transparentes de lecitina cruda en medio acuoso, característica que debe presentar toda muestra al ser analizada por espectroscopía de NMR. Por otro lado, las lecitinas crudas de girasol, contienen naturalmente iones multivalentes como el Ca^{++} , compuestos que originan el ensanchamiento de pico en los espectros, por lo que el uso de complejantes de estos iones, como el EDTA, podría ayudar a obtener mejor resolución en los mismos (Spyros y Dais 2009). Además es importante la elección del estándar interno adecuado, para la cuantificación de los compuestos de interés. En este trabajo se describe el desarrollo de una metodología analítica utilizando ^{31}P -NMR para la determinación cualitativa en medio acuoso de fosfolípidos (PLs) y lisofosfolípidos (LPLs) en lecitina cruda de girasol y sus productos modificados enzimáticamente seleccionando las mejores condiciones en cuanto a presencia de detergentes, complejantes de iones Ca, pH, y estándar interno.

MATERIALES Y MÉTODOS

La lecitina cruda, proveniente del desgomado acuoso del aceite de girasol, fue provista por una empresa oleaginoso local. Su caracterización química general, según normas internacionales (AOCS-Sección J 2003) reveló que contenía un 67% de materia insoluble en acetona (aproximadamente 45% PLs), 32% de aceite y 0,5% de agua.

La lecitina hidrolizada se obtuvo a partir de la hidrólisis enzimática de esta lecitina cruda nativa, utilizando Lecitase® Ultra como catalizador, según lo informado en Goñi (2014). La hidrólisis se llevó a cabo en medio acuoso, a $\text{pH} = 5$ y en un reactor batch con temperatura controlada ($T = 50\text{ }^\circ\text{C}$). La enzima es un preparado comercial gentilmente donado por Novozymes (Bagsvaerd, Dinamarca), en su forma libre, y presenta actividad fosfolipasa A_1 (PLA_1 ; E.C.3.1.1.32). La reacción se llevó a cabo por distintos tiempos, entre 5 min y 24h. Transcurrido el tiempo deseado, las muestras fueron incubadas a $100\text{ }^\circ\text{C}$ para inactivar la enzima y detener la reacción enzimática.

Para la preparación de muestra se utilizó deoxicolato sódico (Sigma, Italia), EDTA disódico (p.a. ACROS ORGANIC), y agua deuterada (D_2O , ARMAR, Suiza).

Como estándares internos para la cuantificación se utilizaron fosfato disódico (Na_2HPO_4 , Sigma, Italia) y N-fosfonometil glicina (PMG, Monsanto Europe, N. V.). Para la identificación de los compuestos y validación del método propuesto se utilizaron patrones puros de fosfolípidos y lisofosfolípidos. La fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE), ácido fosfatídico (PA), fosfoglicerol (PG) y lisofosfatidilcolina (LPC) fueron de Coatsome NOF Corporation (Tokio, Japón). El fosfatidilinositol (PI) y lisofosfatidilinositol (LPI) fueron de Sigma (Italia). Como

para alguna de las especies de LPLs y GPLs no se contaba con el patrón comercial, para la identificación de estos compuestos se hidrolizaron todas las especies de PLs correspondientes (PC, PI, PE, PA y PG) con Lecitase® Ultra en idénticas condiciones a las de la hidrólisis de la lecitina cruda, de manera tal de obtener las señales correspondientes a todos los compuestos de LPLs y GPLs. Todas las muestras de lecitina (nativa y modificada) en agua fueron preparadas alternando sonicación y agitación a 40 °C.

Las determinaciones mediante ³¹P-NMR se llevaron a cabo por duplicado, en un equipo Bruker Avance 500 (500 MHz, Rheinstetten, Alemania), operado a una frecuencia de 202,46 MHz. La adquisición de datos se realizó con 65180 data points, pulso de excitación de 90°, y número de escaneos: 256.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Preparación de Muestras

La **Tabla 1** muestra los resultados obtenidos en los estudios de transparencia de las muestras, con el agregado de distintas concentraciones de DC, en suspensiones acuosas de 2% y 4% lecitina cruda de girasol.

Tabla 1: Transparencia lograda en muestras de lecitina cruda de girasol en agua, según la cantidad de deoxicolato (DC) utilizada.

% DC (m/m)	% Lecitina (m/m)	
	2%	4%
0	muy turbio	muy turbio
5	Turbio	turbio
7	ligeramente turbio	ligeramente turbio
10	Transparente	Transparente

Se encontró que con un 10% DC se obtenía una correcta disolución de los productos de reacción, otorgando muestras estables y transparentes.

Por otro lado, los resultados obtenidos en el estudio del efecto de agregado de EDTA en la resolución de los picos del espectro de NMR, se muestran en la **Figura 2**. En esta figura puede verse que los espectros obtenidos con muestras que contenían EDTA (**Figura 2A**), mostraron una resolución mucho mejor, con picos bien identificables, comparados con los obtenidos para las muestras sin el agregado de EDTA (**Figura 2B**). Puede observarse que el agregado de EDTA en las muestras es indispensable para lograr una buena resolución de los picos, facilitando la identificación y cuantificación de las especies de interés.

Por otra parte, durante la determinación por P-NMR se observó que las muestras conteniendo EDTA luego de un tiempo comenzaban a desestabilizarse hasta presentar precipitados en los viales y en los tubos de NMR. Por este motivo, se decidió estudiar una solución al problema de la desestabilización. Luego, se prepararon muestras con menores concentraciones de EDTA (0,5 y 1 mM) para comprobar si esto mejoraba su estabilidad, pero se obtuvieron los mismos resultados, con formación de precipitados luego de cierto tiempo a temperatura ambiente.

Debido a que la solubilidad del EDTA en soluciones acuosas varía según el pH, se realizaron estudios de solubilidad y estabilidad de las muestras a temperatura ambiente, a diferentes valores de pH. Se prepararon muestras similares a las del ensayo anterior (10% DC, 2% lecitina; m/m), con 1 y 2 mM de Na-EDTA, a temperatura ambiente, con valores de pH de 6, 7, 8 y 9. El pH de las muestras se ajustó con NaOH o HCl 0,1 N según fuese necesario, luego se dejaron descansar a temperatura ambiente por 12 h, y se evaluó su estabilidad. Los resultados confirmaron

la baja solubilidad del Na-EDTA en las muestras a pH=6, e incluso a pH=7, observándose la formación de precipitados para las dos concentraciones utilizadas del compuesto quelante. Por el contrario, las muestras con 1 mM y 2 mM de Na-EDTA a pH=8 y 9, se mantuvieron claras y estables, sin presencia de precipitados, lo que confirmó que si se trabaja a pH = 8 no es necesario disminuir el contenido de Na-EDTA en las muestras y puede mantenerse la concentración inicialmente propuesta de 2 mM.

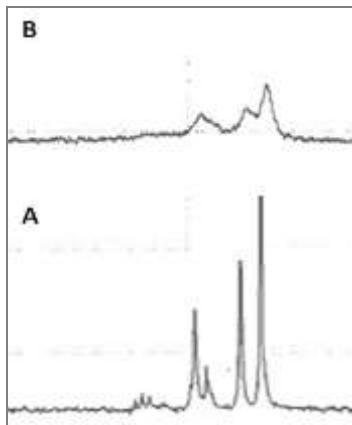


Figura 2: Comparación de espectros obtenidos por ^{31}P -NMR para muestras de lecitina cruda nativa de girasol, con (A) y sin (B) el agregado de EDTA.

Por lo tanto, se decidió preparar todas las muestras para las determinaciones de PLs y LPLs por espectroscopía de P-NMR con una concentración 2 mM de Na-EDTA y ajustar el pH de todas ellas a un valor de 8, utilizando NaOH 0,1 N.

Elección de estándar interno (IS) para cuantificación

Debido a que las muestras provenientes de la modificación enzimática se encontraban en medio acuoso, se estudió la utilización de dos compuestos como IS, para la cuantificación mediante ^{31}P -NMR: la sal sódica del ácido fosfórico (Na_2HPO_4) y la N-fosfonometilglicina (PMG). Se ensayaron determinaciones de lecitina cruda de girasol (2% m/m), en solución de 10% DC (m/m) y 2 mM EDTA, utilizando fosfato disódico y PMG como estándares internos con una concentración de 5 mM, y se evaluó la resolución de sus señales. En la **Figura 3** se muestran los espectros correspondientes a muestras de lecitinas de girasol con ambos estándares.

El fosfato disódico mostró señales con menor resolución, presentando picos anchos, y con leves corrimientos de las señales en los espectros. Por el contrario, el PMG mostró señales bien angostas y uniformes en todas las muestras. Por ello, se seleccionó el PMG como estándar más adecuado.

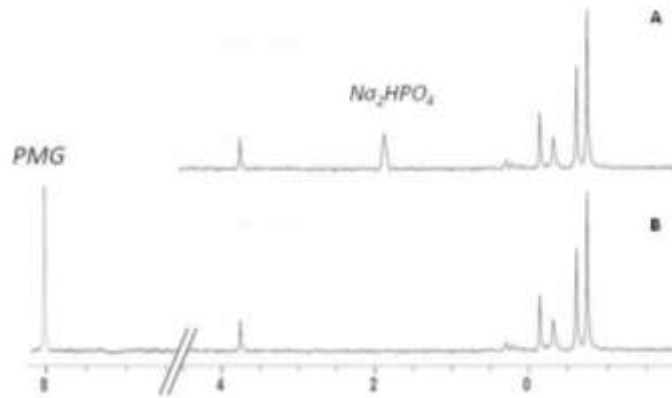


Figura 3: Espectros de ^{31}P -NMR de muestras de lecitina cruda nativa de girasol nativa con (A) fosfato disódico (Na_2HPO_4), y (B) N-fosfonometil glicina (PMG) como estándares internos para la cuantificación.

Identificación de Compuestos

Para lograr la correcta identificación de los compuestos correspondientes a todas las especies de fosfolípidos, lisofosfolípidos y glicerofosfolípidos intervinientes en la reacción de hidrólisis, se eligieron como muestras representativas la lecitina cruda de girasol nativa y modificada mediante hidrólisis, con tiempos de reacción de 20 min y 24 h. De este modo, se aseguraba que tanto los PL, LPLs (productos intermedios) como los GPLs (productos de hidrólisis total) estuvieran presentes en al menos una de las muestras y sus picos aparecieran en los espectros.

Para la identificación de todos los picos se utilizaron compuestos comerciales puros, sus productos de hidrólisis obtenidos en el

laboratorio bajo las mismas condiciones de reacción que las lecitinas y mezclas comerciales de composición conocida.

En la **Figura 4** se muestran los espectros correspondientes a LPC pura (C18-LisoPC) (Fig. 4.A) y una muestra de hidrólisis de PC (Fig. 4.B). Puede observarse un pico extra en la muestra de PC hidrolizada, que se atribuye a la forma más hidrolizada del compuesto, la glicerofosfatidilcolina (GPC), producto de hidrólisis de la 2-LPC. Cabe destacar cómo este método de identificación logró distinguir entre las dos formas de LPC (1-LPC y 2-LPC), según la posición en la que se encuentre el ácido graso (AG). La nomenclatura indica que la 1-LPC fue hidrolizada en la posición 1 quedando un AG esterificado en la posición 2, como sucede en el caso de utilizar Lecitase® Ultra, enzima con actividad PLA_1 . Por el contrario, la 2-LPC presenta una AG esterificado en la posición 1 por lo que puede ser hidrolizado nuevamente por la enzima Lecitase® Ultra para dar GPC, la forma más hidrolizada del compuesto, sin AGs.

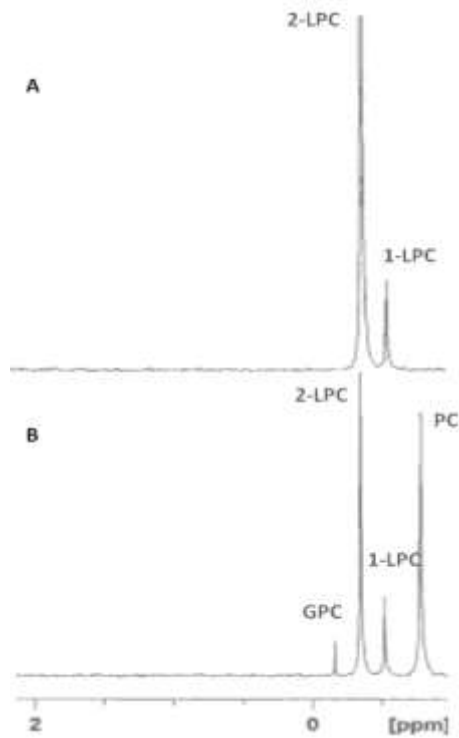


Figura 4: Espectros de ^{31}P -NMR correspondientes a muestras comerciales de C-18-Lisofosfatidilcolina (A), y fosfatidilcolina (B), esta última hidrolizada con Lecitase® Ultra.

Luego, mediante el método propuesto fue posible la identificación de todas las especies de PLs, LPLs y GPLs presentes en la lecitina cruda de girasol y sus muestras hidrolizadas. En la **Figura 5** se muestran los espectros correspondientes a lecitina cruda de girasol (**Figura 5A**) y modificada por hidrólisis

enzimática a tiempos cortos ($t = 20$ min, **Figura 5B**) y luego de 24 h de reacción (**Figura 5C**)

Puede observarse como en la muestra sin modificar se identifican todas las especies de PLs (PC, PI, PE, PA, y PG). Asimismo en las muestras modificadas conteniendo un alto contenido de LPLs y a tiempos largos de reacción GPLs, pueden identificarse las señales correspondientes a todas las especies (LPC, LPI, LPE, LPA, LPG, y GPC, GPI, GPE, GPA, y GPG).

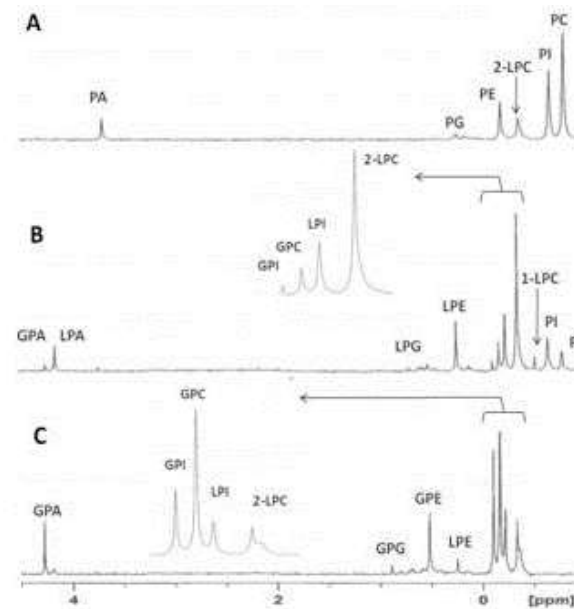


Figura 5: Espectros de resonancia magnética nuclear de fósforo (^{31}P -NMR) para lecitina cruda de girasol (A), y sus muestras enzimáticamente modificadas para 20 min (B) y 24 h de reacción (C).

Validación del Método

Para la validación del método cuantitativo, se prepararon muestras de concentración conocida de PLs y LPLs, a partir de compuestos puros o mezclas de composición conocida. Para ello se utilizaron compuestos comerciales de PC, PI, PE, PA, PG, LPC y LPI. Estas se prepararon de manera idéntica a las muestras de lecitina, con 10% (m/m) DC, 2mM EDTA y a pH = 8. Las cantidades utilizadas fueron similares a las identificadas en las muestras de lecitina, según sea el PL o LPL, teniendo en cuenta el grado de pureza del producto. Todas las determinaciones se llevaron a cabo por duplicado.

En la **Tabla 2** se muestra la pureza determinada experimentalmente para los principales compuestos, en comparación con el grado de pureza informado por el proveedor (Valor teórico, V_T).

Analizando el error relativo puede verse que para la mayoría de los compuestos se obtienen determinaciones con por lo menos 98% de exactitud, comparando con el valor declarado.

Tabla 2: Comparación entre la pureza de muestras comerciales (V_T) y la determinada experimentalmente, a partir de muestras de concentración conocida de PLs y LPLs

Especie	Pureza del Compuesto (% m/m)					
	V_T^a	Determinada $^{31}\text{P-NMR}^b$	por	CV% ^c	Error (%)	Relativo ^d
PC	99	97,92		0,68	1,09	
PI	50	48,39		1,07	3,22	

PE	99	97,60	1,18	1,41
PA	99	97,33	1,32	1,69
PG	99	96,09	1,51	2,94
LPC	99	97,95	0,71	1,06
LPI	96	94,38	0,87	1,69

^a V_T : Valor teórico informado por el proveedor.

^b Media aritmética, n = 2.

^c CV%: Coeficiente de variación de los valores determinados por NMR.

^d $E_R\% = (V_T - \text{Valor medio experimental})/V_T * 100$.

Luego, mediante este método, es posible la determinación cuali-cuantitativa del contenido de fosfogliceridos presentes en la lecitina cruda de girasol nativa y modificada por hidrólisis enzimática. Esta técnica resulta de gran utilidad para realizar el seguimiento de los productos de hidrólisis de PLs, lo que permitiría no sólo evaluar la cinética de reacción, sino también caracterizar las lecitinas modificadas.

CONCLUSIONES

La metodología de espectroscopía de ^{31}P -NMR, demostró ser adecuada para la determinación de fosfolípidos en lecitina cruda de girasol y sus productos de hidrólisis.

El método desarrollado presenta, entre otras, dos grandes ventajas frente a otros métodos cromatográficos: puede realizarse en medio acuoso sin necesidad de purificación previa de la muestra ni del requerimiento de curvas de calibrado para cada especie; y fundamentalmente, permite la identificación simultánea en un único ensayo de todos los fosfolípidos, lisofosfolípidos y glicerofosfolípidos presentes en la muestra. Esta técnica es adecuada en la caracterización tanto de las lecitinas nativas de diferentes fuentes como así también de los distintos productos obtenidos mediante modificación enzimática con distintos grados de hidrólisis permitiendo además ser aplicada en estudios cinéticos. De esta manera, la metodología propuesta constituye una importante herramienta para la caracterización de lecitinas, pudiendo ser utilizada para lograr correlacionar las propiedades surfactantes que puedan presentar tanto las nativas como modificadas, en productos alimenticios, cosméticos o en la industria farmacéutica.

BIBLIOGRAFÍA

- AOCS. 2003. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. Champaign: AOCS Press.
- Braverman V. 1999. Productos comerciales de lecitina. Aceites y Grasas, Marzo: 111–116.
- Cabezas DM, Madoery R, Diehl BWK, y Tomás MC .2012. Capítulo 3: Emulsifying Properties of Hydrolyzed Sunflower Lecithins by Phospholipases A₂ of Different Sources. En Valdez B. editor. Food Industrial Processes – Methods and Equipment. Rijeka: In Tech. pág. 39–50.
- Diehl BWK. 2001. High resolution NMR spectroscopy. European Journal of Lipid Science and Technology, 103: 830–834.
- Frank AW. 2013. Capítulo 4: Phospholipids. En Chemistry of Plant Phosphorus Compounds. Vol. 2. waltham: Elsevier Inc. pág. 159–304.
- Goñi ML. 2014. Utilización de Lipasas en la Modificación Enzimática de Lecitinas Crudas. Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Sur.
- London E, Feigenson GW. 1979. Phosphorus NMR analysis of phospholipids in detergents. Journal of Lipid Research, 20(3): 408–12.
- Nguyen MT, Van de Walle D, Petit C, Beheydt B, Depypere F, y Dewettinck K. 2014. Mapping the Chemical Variability of Vegetable Lecithins. Journal of the American Oil Chemists' Society, 91(7): 1093–1101.
- Spyros A, y Dais P. 2009. ^{31}P NMR spectroscopy in food analysis. Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, 54(3-4): 195–207.

Van Nieuwenhuyzen W, Tomás MC. 2008. Update on vegetable lecithin and phospholipid technologies. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110(5): 472–486.

Wendel A. 2000. Lecithin. En *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. New York: John Wiley & Sons, Inc. pág 1-17.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a CONICET, ANPCyT, UNS (Argentina), UGent (Bélgica) y al Proyecto EUROTango (Erasmus mundus Action II) por el financiamiento.

HERRAMIENTAS INFORMÁTICAS PARA MEDICIÓN DE COLOR DE ALIMENTOS EN EL ESPACIO *CIELAB* A PARTIR DE IMÁGENES DIGITALES

Goñi S.M.^{1,2}, Salvadori V.O.^{1,2}

1: Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA), CCT-CONICET La Plata. Univ. Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.

2: Facultad de Ingeniería, Univ. Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.

smgoni@quimica.unlp.edu.ar

Resumen: El objetivo de este trabajo fue evaluar la factibilidad del uso de imágenes digitales para realizar mediciones de color de alimentos y principalmente desarrollar un sistema para el procesamiento de la información. Se construyó un sistema de visión computacional formado por una cámara digital y un ambiente de iluminación controlada, para realizar la adquisición de imágenes. Se desarrolló un programa para procesar la información adquirida, el cual implementa diversas transformaciones entre el espacio de color *RGB* y el *CIELAB*, y se presenta como interfaces gráficas, más amigables y fáciles de usar para el usuario. Se desarrollaron dos módulos principales: el 1º realiza la prueba o calibración del sistema, usando como patrón de color el objetivo clásico de una carta de colores X-Rite ColorChecker. El 2º módulo implementa varias opciones para el pre-procesamiento de las imágenes y realiza la transformación de color en cada pixel. Se obtienen valores promedios y desviaciones de los parámetros de color en el espacio *CIELAB* y

cuenta con opciones adicionales de respuestas gráficas. Las pruebas de calibración realizadas fueron satisfactorias. Se realizaron mediciones sobre diferentes muestras y se las comparó con mediciones obtenidas con un colorímetro digital, y los resultados obtenidos fueron aceptables.

Palabras Clave: color, *CIELAB*, cámara digital, procesamiento de imágenes.

Abstract: The aim of this work was to perform food color measurements from digital images and to develop graphics user interfaces for data processing. A computer vision system was developed, which includes a digital camera, a controlled lighting environment, and software to information processing. The software incorporates several transformations between the *RGB* and *CIELAB* color spaces. It was developed like graphic user interfaces, which are more friendly and easy to use. These interfaces consist of two levels: the first one perform the system calibration, using the classic rendition chart X-Rite ColorChecker, whereas the second one have several options to preprocess the image and perform the color space transformation for each pixel. The average and deviations of each *CIELAB* color parameters is then obtained, and some graphics results are also available. Calibration tests were successful. Additional color measurements of several samples were performed and were compared with digital colorimeter measurements, with acceptable results.

Keywords: color, *CIELAB*, digital camera, image processing.

INTRODUCCIÓN

El color de los alimentos es una característica de calidad de primordial importancia, dado que es el primer aspecto que perciben los consumidores, y puede determinar la aceptación o rechazo de un producto (León *et al.* 2006, Valous *et al.* 2009, Dowlati *et al.* 2013, Girolami *et al.* 2013, Pace *et al.* 2013, Wu y Sun 2013). Este aspecto es más importante para productos crudos, como fruti-hortícolas y cárneos.

En este campo el color se representa tradicionalmente usando el espacio *CIELAB*, y generalmente las mediciones se realizan empleando colorímetros digitales (León *et al.* 2006, Jackman *et al.* 2012, Girolami *et al.* 2013, Wu y Sun 2013). Estos equipos son fáciles de utilizar y poseen un sistema para calibrarlos de manera sencilla, sin embargo presentan una serie de limitaciones. En primer lugar, las áreas de medición son pequeñas, de unos pocos cm^2 (León *et al.* 2006, Jackman *et al.* 2012, Girolami *et al.* 2013); esto determina que la superficie a medir debe tener un color uniforme, de manera tal que las mediciones realizadas sean representativas de toda la muestra. Si la superficie a medir no posee un color uniforme, deben realizarse mediciones en muchos lugares diferentes, lo cual genera una dificultad adicional y puede requerir posteriormente unificar espacialmente, de alguna manera, todas las mediciones realizadas o correlacionar el color con la posición. Por otro lado, si las muestras a medir son muy pequeñas (como granos, etc.), no cubren la apertura del objetivo del equipo. Otro aspecto es que los equipos deben ponerse en contacto con la superficie a medir, lo cual tiene la ventaja de eliminar la interferencia de

fuentes de luz externas, pero es una característica muy limitante para aplicaciones industriales y de monitoreo en línea. Una característica adicional es el costo de adquisición de los equipos (Jackman *et al.* 2012, Wu y Sun 2013) y también el costo de reparación y repuestos.

El uso de imágenes digitales en el área de ingeniería y análisis de alimentos se ha incrementado considerablemente en los últimos años, con variadas aplicaciones (Brosnan y Sun 2004). En particular, se han publicado numerosos trabajos para determinar el color de alimentos en el espacio *CIELAB* a partir de imágenes digitales (León *et al.* 2006, Mendoza *et al.* 2006, Purlis y Salvadori 2007, Larraín *et al.* 2008, Lee *et al.* 2008, Purlis y Salvadori 2009, Romani *et al.* 2009, Valous *et al.* 2009, Jackman *et al.* 2012, Dowlati *et al.* 2013, Girolami *et al.* 2013, Hosseinpour *et al.* 2013). Recientemente Wu y Sun (2013) realizaron una revisión de la medición del color de alimentos usando imágenes. Para realizar la medición de color de alimentos usando imágenes, se requiere un sistema de visión computacional, el cual está constituido genéricamente por una cámara digital, un gabinete de adquisición de imágenes, un sistema de iluminación controlada y un software o programa para procesar la información obtenida. Estos sistemas permiten superar todas las limitaciones mencionadas anteriormente sobre el uso de colorímetros. El uso de imágenes digitales permite realizar mediciones en áreas mucho más grandes, obteniendo gran cantidad de información espacial, la cual puede incluir muestras completas de diferentes tamaños (León *et al.* 2006, Jackman *et al.* 2012, Girolami *et al.* 2013) y provee información de color para cada píxel de la imagen, es un equipo de mucho menor costo (Valous *et al.* 2009, Jackman *et al.* 2012, Wu y Sun 2013) y con gran diversidad de marcas y modelos, no requiere el contacto directo de la cámara

con la muestra a medir, y puede usarse en forma remota, incluso a través de internet y con conexiones inalámbricas.

Uno de los aspectos centrales del uso de imágenes digitales radica en el procesamiento de la información, dado que las cámaras digitales obtienen información de color en algún espacio de color *RGB*, el cual debe ser transformado al espacio de color *CIELAB* (León *et al.* 2006). En un sistema ideal, con condiciones de iluminación estándar, se puede emplear la transformación teórica directa, libre de parámetros, entre estos espacios de color (Gonzales y Woods 2002). Si las condiciones no se corresponden con la de alguna condición estándar, se requerirán obtener parámetros característicos del modelo teórico directo en las condiciones dadas, o alternativamente se pueden usar otras transformaciones empíricas entre espacios de color, siendo esta última la opción más utilizada.

El objetivo de este trabajo fue desarrollar un programa para el procesamiento de la información en el marco de la implementación y validación de un sistema de visión computacional para realizar mediciones de color de alimentos a partir de imágenes digitales. El programa se desarrolló en forma de interfaces gráficas, de fácil utilización, y consta de dos grandes módulos. El 1º módulo realiza la prueba o calibración del sistema, usando como patrón el objetivo clásico de una carta de colores X-Rite ColorChecker. El 2º módulo implementa diversas opciones para el pre-procesamiento de las imágenes y realiza la transformación entre espacios de color. Las pruebas de calibración realizadas fueron satisfactorias. Se realizaron además mediciones adicionales sobre diferentes muestras, usando tanto el sistema de visión computacional como un colorímetro digital, con buenos resultados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Gabinete de adquisición de imágenes y sistema de iluminación

El sistema de visión computacional (SVC) desarrollado, está formado por tres elementos: un gabinete de adquisición de imágenes y un sistema de iluminación, una cámara digital y un programa para procesar las imágenes. El gabinete de adquisición se construyó en madera, pintada con pintura negro mate para reducir las reflexiones de luz. El sistema de iluminación está formado por 4 tubos fluorescentes colocados sobre las paredes laterales en la parte superior del gabinete. La adquisición de imágenes se realizó con una cámara NIKON D3100. Más detalles del gabinete de adquisición pueden encontrarse en Goñi *et al.* (2014).

Modelos de transformación del espacio de color RGB al espacio de color CIELAB

Para probar y/o calibrar el sistema, se usó como patrón de color el objetivo clásico de una carta de colores X-Rite ColorChecker, el cual ha sido utilizado en diversas publicaciones (Valous *et al.* 2009, Jackman *et al.* 2012, Girolami *et al.* 2013, Pace *et al.* 2013). El mismo está formada por 24 parches de diferentes colores, para los cuales se conocen sus valores L^* , a^* y b^* (es decir, se disponen de 72 datos), en el estándar D65. Más detalles sobre el patrón de colores puede encontrarse en Pascale (2006).

Como se mencionó, existe una transformación teórica directa entre los espacios de color *RGB* y *CIELAB*, la cual se implementó en el programa. La prueba del sistema consiste en testear directamente dicha transformación, la cual está libre de

parámetros (es decir, no puede ser ajustada). Dado que las condiciones experimentales pueden no coincidir con una condición de iluminación estándar, el programa incorpora además otras transformaciones empíricas. Las transformaciones implementadas en el programa se describen a continuación.

Transformación teórica directa. La imagen *RGB* original se escala en el intervalo [0 1]; para imágenes de *n* bits por capa de color, la normalización se realiza dividiendo la imagen por $2^n - 1$:

$$RGB' = \frac{RGB}{2^n - 1} \quad (1)$$

donde *RGB* es un vector que contiene las componentes roja, verde y azul de cada píxel, y *RGB'* es la imagen escalada. Posteriormente, la imagen escalada se convierte a valores triestímulo *XYZ*, usando la función *g* (IEC 61966-2-1, 1999):

$$XYZ = \begin{bmatrix} 0.4124 & 0.3575 & 0.1804 \\ 0.2126 & 0.7151 & 0.0721 \\ 0.0193 & 0.1191 & 0.9504 \end{bmatrix} g(RGB') \quad (2)$$

donde la función *g* se define como:

$$g(x) = 100 \begin{cases} \left(\frac{x + 0.055}{1.055} \right)^{2.4}, & x > 0.04045 \\ \frac{x}{12.92}, & x \leq 0.04045 \end{cases} \quad (3)$$

Finalmente, los valores triestímulo *XYZ* se convierten a valores $L^*a^*b^*$ usando la función *h* (Gonzalez y Woods 2002):

$$\begin{cases} L^* = 116h\left(\frac{Y}{Y_R}\right) - 16 \\ a^* = 500\left(h\left(\frac{X}{X_R}\right) - h\left(\frac{Y}{Y_R}\right)\right) \\ b^* = 200\left(h\left(\frac{Y}{Y_R}\right) - h\left(\frac{Z}{Z_R}\right)\right) \end{cases} \quad (4)$$

donde la función *h* se define como:

$$h(x) = \begin{cases} x^{1/3}, & x > \left(\frac{6}{29}\right)^3 \\ \frac{1}{3}\left(\frac{29}{6}\right)^2 x + \frac{4}{29}, & x \leq \left(\frac{6}{29}\right)^3 \end{cases} \quad (5)$$

En esta transformación se asume como referencia un iluminante D65, y es la que implementa el programa por defecto. Para este iluminante, se definen los coeficientes tricromáticos de referencia $X_R = 0.3127$, $Y_R = 0.3290$ (y $Z_R = 1 - X_R - Y_R$), y un valor de referencia $Y_R = 100$. Los valores de X_R y Z_R pueden obtenerse como:

$$\begin{cases} X_R = \frac{x_R}{y_R} Y_R \\ Z_R = \frac{z_R}{y_R} Y_R \end{cases} \quad (6)$$

El programa cuenta con un archivo editable donde se encuentran ciertos parámetros que el usuario puede modificar para cambiar el iluminante. Para esto, el usuario debe modificar los coeficientes tricromáticos de referencia y la matriz de Bradford para transformar los valores tricromáticos del estándar D65 al nuevo iluminante (Pascale 2006, Wu y Sun 2013).

Transformaciones empíricas. Transformación directa ajustada: la transformación teórica directa fue modificada para obtener una forma alternativa con parámetros a ajustar (α, β, θ):

$$\begin{cases} L^* = \alpha_1 h\left(\frac{Y}{Y_R}\right) + \alpha_2 \\ a^* = \beta_1 h\left(\frac{X}{X_R}\right) + \beta_2 h\left(\frac{Y}{Y_R}\right) + \beta_3 \\ b^* = \theta_1 h\left(\frac{Y}{Y_R}\right) + \theta_2 h\left(\frac{Z}{Z_R}\right) + \theta_3 \end{cases} \quad (7)$$

Este modelo es lineal en los parámetros, por lo cual su ajuste es simple.

Transformaciones polinómicas: se implementaron otras tres transformaciones empíricas, las cuales relacionan los valores

$L^*a^*b^*$ con potencias de los valores RGB , e interacciones entre ellas. El modelo seleccionado se aplica a los tres parámetros de color L^* , a^* y b^* . R , G , B , representa a rojo, verde y azul, respectivamente. Los modelos son lineales en los parámetros, por lo cual el ajuste es simple.

$$L^*, a^*, b^* = \alpha_1 + \alpha_2 R + \alpha_3 G + \alpha_4 B \quad (8)$$

$$L^*, a^*, b^* = \alpha_1 + \alpha_2 R + \alpha_3 G + \alpha_4 B + \alpha_5 R^2 + \alpha_6 G^2 + \alpha_7 B^2 \quad (9)$$

$$L^*, a^*, b^* = \alpha_1 + \alpha_2 R + \alpha_3 G + \alpha_4 B + \alpha_5 R^2 + \alpha_6 G^2 + \alpha_7 B^2 + \alpha_8 RG + \alpha_9 RB + \alpha_{10} GB + \alpha_{11} RGB \quad (10)$$

Estimación del error de prueba y calibración. Como medida de error para la prueba y/o calibración del sistema se emplean las desviaciones absolutas promedios (Ec. (11), c^* se refiere a L^* , a^* o b^*) y la diferencia de color promedio (Ec. (12)); los subíndices "Exp" y "Pred", se refieren a valores experimentales y predichos, respectivamente:

$$|\Delta c^*| = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m |c^*_{Exp,i} - c^*_{Pred,i}| \quad (11)$$

$$\Delta E = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m \sqrt{(L^*_{Exp,i} - L^*_{Pred,i})^2 + (a^*_{Exp,i} - a^*_{Pred,i})^2 + (b^*_{Exp,i} - b^*_{Pred,i})^2} \quad (12)$$

Modelos de transformación del espacio de color *CIELAB* al espacio de color *RGB*

El programa permite invertir la transformación realizada, de manera tal de comparar la imagen original con la que se obtiene aplicando la transformación inversa, lo cual puede ayudar a detectar visualmente si la transformación funcionó bien, o si tuvo alguna dificultad.

Inversa de la Transformación Directa. Los valores $L^*a^*b^*$ obtenidos se transforman a valores *RGB*, usando la inversa de la transformación directa (note que se pueden despejar los valores *RGB*):

$$\begin{cases} Y = Y_R h^{-1}\left(\frac{L^*+16}{116}\right) \\ X = X_R h^{-1}\left(\frac{a^*}{500} + \frac{L^*+16}{116}\right) \\ Z = Z_R h^{-1}\left(\frac{L^*+16}{116} - \frac{b^*}{200}\right) \end{cases} \quad (13)$$

$$RGB = 255 g^{-1} \left\{ \left(\begin{bmatrix} 0.4124 & 0.3575 & 0.1804 \\ 0.2126 & 0.7151 & 0.0721 \\ 0.0193 & 0.1191 & 0.9504 \end{bmatrix} \right)^{-1} XYZ \right\} \quad (14)$$

Las funciones h^{-1} y g^{-1} son las inversas de las funciones h y g , respectivamente.

Inversa de las Transformaciones Empíricas. La inversa de la transformación teórica directa modificada (Ec. (7)) es también directa dado que se pueden despejar los valores *RGB*. La inversa de las transformaciones polinómicas son no-lineales y se resuelven numéricamente para cada píxel usando el método de Newton-Raphson.

Desarrollo del programa para el procesamiento de la información

El programa para el procesamiento de la información adquirida se desarrolló en forma de interfaces gráficas, usando MATLAB. Los pasos iniciales para su utilización no se tratarán aquí; los mismos se proveen dentro de la documentación y ayuda del programa. El mismo se encuentra disponible para su uso en forma de archivos pre-compilados. El programa comienza con una interfaz de inicio, desde la cual se puede acceder a todo el material. Se implementaron dos interfaces principales: (i) calibración y/o prueba del sistema y (ii) transformación *RGB* a $L^*a^*b^*$.

En un trabajo previo (Goñi *et al.* 2014), se encontró que la transformación teórica directa no dio resultados satisfactorios, lo que indica que el sistema (la iluminación, la cámara, o ambos), no representa satisfactoriamente las condiciones estándares. Igualmente el modelo es mantenido en el desarrollo del programa, dado que si se mejora el sistema de adquisición de imágenes utilizado aquí (iluminación, cámara, etc.), o el programa de procesamiento es usado para procesar información obtenida en sistemas de adquisición desarrollados por terceros, se pueden lograr mejoras en las predicciones del modelo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Interfaz para calibración y/o prueba del sistema: Para realizar la calibración y/o prueba del sistema, la interfaz permite leer un archivo con los valores $L^*a^*b^*$ de todos los parches de la carta de colores, y una imagen de la carta de colores. La **Figura 1** muestra esta interfaz, donde ya se ha leído y segmentado una imagen del patrón de colores.

Una vez leída la imagen se seleccionan los parches de color, y la transformación seleccionada se realiza en cada uno de ellos, dando finalmente sus parámetros de color $L^*a^*b^*$ promedio, los cuales se comparan con los valores objetivos.

La selección de los parches de color no se realiza automáticamente, pero se implementó un procedimiento sencillo para seleccionarlos manualmente. Si la carta de colores está bien alineada a los ejes cartesianos, se usa el botón de acción "Definir centros manualmente" con la opción "Usar 2 puntos" activada (**Figura 1**), donde el usuario define únicamente dos puntos: el centro del parche Superior Izquierdo (parche marrón), y el centro del parche Inferior Derecho (parche gris más oscuro) (ver **Figura 1**). Los centros de los otros parches se calculan automáticamente. Si la carta no está bien alineada, se desactiva la opción "Usar 2 puntos", y se define manualmente el centro de cada uno de los parches, en cualquier orden. Luego se solicita el tamaño deseado en píxeles de la forma de la máscara seleccionada (el lado de un cuadrado o el diámetro de un círculo). Posteriormente se muestra la imagen original y la segmentada (**Figura 1**).

Por último, el botón de acción "RGB==>L*a*b*" aplica la transformación seleccionada a cada parche de color (en la **Figura 1** se observa que se está usando el modelo Cuadrático + interacciones, seleccionado por defecto).

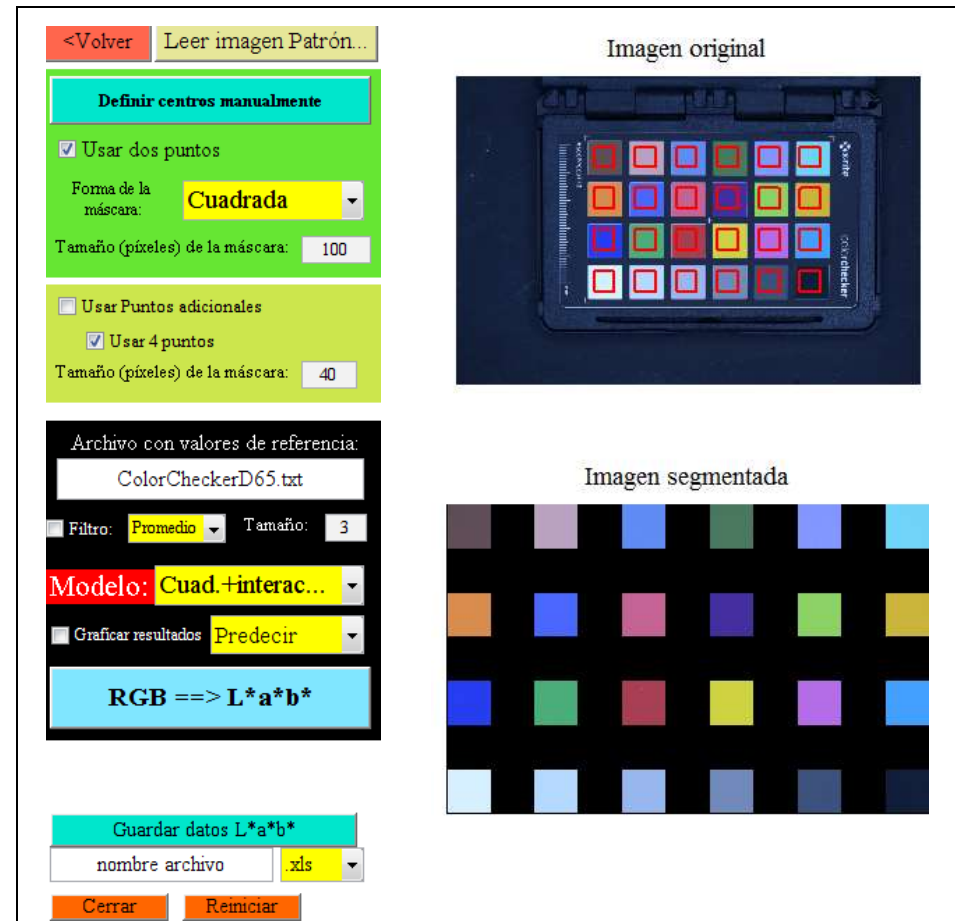


Figura 1: Interfaz gráfica desarrollada para realizar la calibración o prueba del sistema.

Esta interfaz presenta distintas opciones: (i) "Predecir" (seleccionada en la **Figura 1**), o (ii) "Ajustar". Si se usa la opción "Predecir", se leen los parámetros correspondientes al modelo seleccionado, y se comparan sus predicciones con los valores objetivos. Si se usa la opción "Ajustar", se ajustan nuevamente los parámetros del modelo correspondiente (se reescribe el archivo de parámetros). Si selecciona el modelo "Directo", el mismo no tiene parámetros para ajustar. Para ambos casos, se muestran gráficos con la correlación entre los valores predichos y los valores reales, y en la ventana de comandos se muestra el residuo promedio para L^* , a^* y b^* , y ΔE promedio (Ecs. (11) y (12)).

Los datos $L^*a^*b^*$ usados como referencia por defecto (Pascale, 2006) están guardados en un archivo de texto (ColorCheckerD65.txt), el cual es leído desde la interfaz. Si el usuario usa un archivo propio, los datos deben escribirse de izquierda a derecha y de arriba hacia abajo, comenzando por el parche marrón (ver **Figura 1**), la 1º columna es L^* , la 2º es a^* , y la 3º es b^* .

Es importante mencionar que el programa ya trae por defecto parámetros para los modelos de transformación implementados, dado que los mismos fueron calibrados previamente en el sistema de adquisición construido por los autores. Esto implica que posibles usuarios del programa en otros lugares puedan realizar transformaciones de color, pero las mismas no van a ser válidas dado que el sistema de adquisición seguramente es diferente (iluminación, cámara, etc.). En tal situación, nuevos potenciales usuarios deben contar con el patrón de colores X-Rite ColorChecker y su propio sistema de adquisición de imágenes, en cuyo caso el proceso de calibración es rápido y simple.

Interfaz para medición de color

Esta interfaz realiza la transformación del espacio de color RGB al espacio de color CIE_{LAB} , a partir de imágenes cargadas por el usuario, usando alguno de los modelos ajustados. El panel de control principal se detalla en la **Figura 2**.

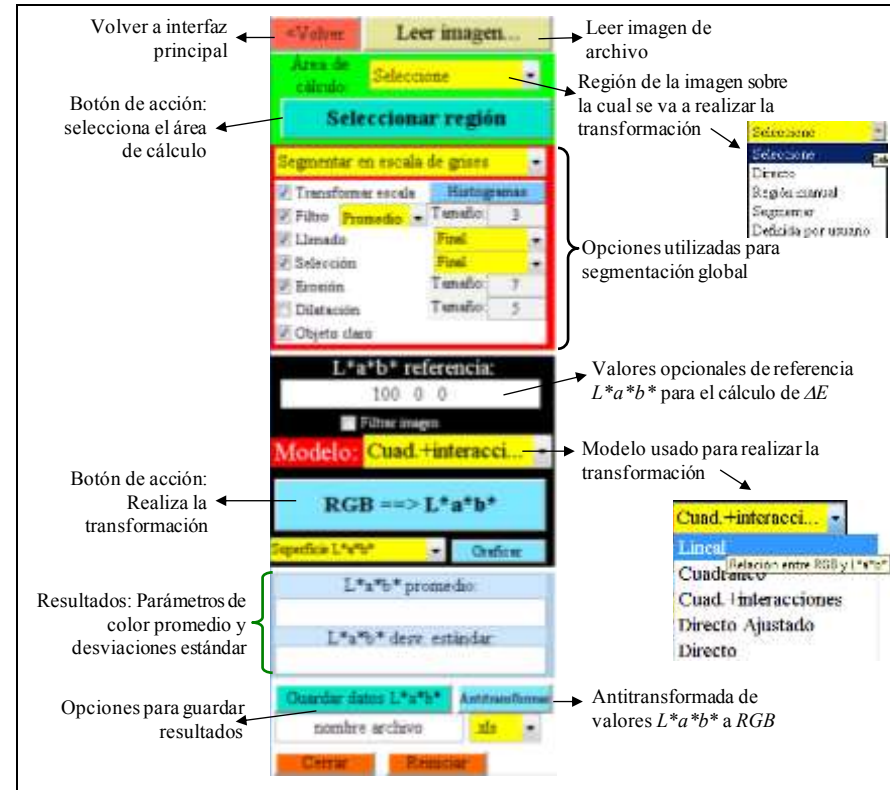


Figura 2: Panel de control de la interfaz gráfica usada para realizar la transformación RGB a $L^*a^*b^*$.

Los pasos para realizar una medición se resumen a continuación: leer imagen, seleccionar la región de cálculo, y realizar la transformación. Los valores promedios y desviaciones de los parámetros de color se mostrarán en la zona de resultados. Adicionalmente se pueden mostrar superficies coloreadas e histogramas para cada parámetro de color.

El "Área de Cálculo" es la región sobre la cual se va a obtener información de color. Se puede establecer de dos maneras básicas: Directo o Por Región. Una vez seleccionada la opción deseada, presionar el botón "Seleccionar región".

Área de cálculo Directa: Opción "Directo". La transformación se aplica a toda la imagen. La imagen leída se mostrará sin cambios en la interfaz.

Área de cálculo Por Región: Opciones: "Región manual", "Segmentar" o "Definida por usuario". La transformación se aplica a toda la imagen, pero luego se extraen únicamente las regiones seleccionadas.

La imagen leída se mostrará en la parte superior de la interfaz, y la región seleccionada en la parte inferior.

Región Manual: es la opción más simple. Se seleccionan con el mouse un número arbitrario de puntos sobre la imagen; estos puntos se usan para definir un polígono que forma una región cerrada que va a usarse como máscara para el cálculo.

Segmentar: se aplica una operación de segmentación global. La **Figura 3** muestra diferentes parámetros usados durante la segmentación.

Definida por usuario: se abre un cuadro de diálogo que permite al usuario definir el nombre de una función para realizar la segmentación.

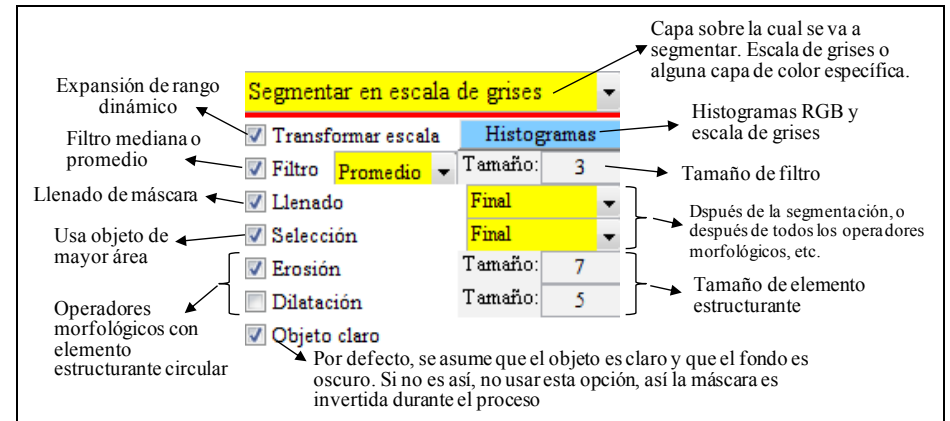


Figura 3: Parámetros usados durante el proceso de segmentación.

Finalmente, presionando el botón "**RGB ==> L*a*b***", se transfiere la imagen y la máscara a la función que realiza la transformación, y los resultados obtenidos se muestran en la zona de resultados y en la ventana de comandos.

La **Figura 4** muestra el proceso de segmentación de una imagen (tamaño 866×948 píxeles, formato *jpg*) de una muestra de galletita rellena; el programa abre una nueva ventana donde va mostrando los sucesivos pasos del proceso de segmentación. Luego de varios pasos, se muestra un histograma de la capa seleccionada para realizar la segmentación, y el programa pide al usuario que ingrese el valor de umbral deseado. El valor de umbral puede ser único, o alternativamente se pueden ingresar dos valores, en cuyo caso se selecciona la región con valores entre esos dos umbrales. El ejemplo de la **Figura 4** muestra esta situación. Una vez finalizada la segmentación, se activa automáticamente la interfaz principal, donde se muestran la imagen original y la segmentada; si el

resultado no es satisfactorio, el usuario debe realizar los cambios necesarios en los parámetros de segmentación y repetir el proceso. Finalmente se realiza el cálculo, en este caso usando el modelo cuadrático más interacciones, y se muestran en la interfaz los valores promedios y desviaciones de los parámetros de color, al igual que en la ventana de comandos:

Elapsed time is 0.352869 seconds.

L*a*b* promedio: 42.9952 31.1242 27.8045

L*a*b* desviación: 4.3956 5.4235 4.0858

Delta E Promedio: 70.9586

Delta E desviación: 4.6531

-

L*a*b* mínimo: 32.1753 11.3318 15.4719

L*a*b* máximo: 82.9851 52.6151 47.1657

En este ejemplo, se usaron 101.721 píxeles de los 820.968 píxeles disponibles (12.39%).

Se pueden graficar también los parámetros de color obtenidos como imágenes o superficies coloreadas, y también sus histogramas (**Figura 5**).

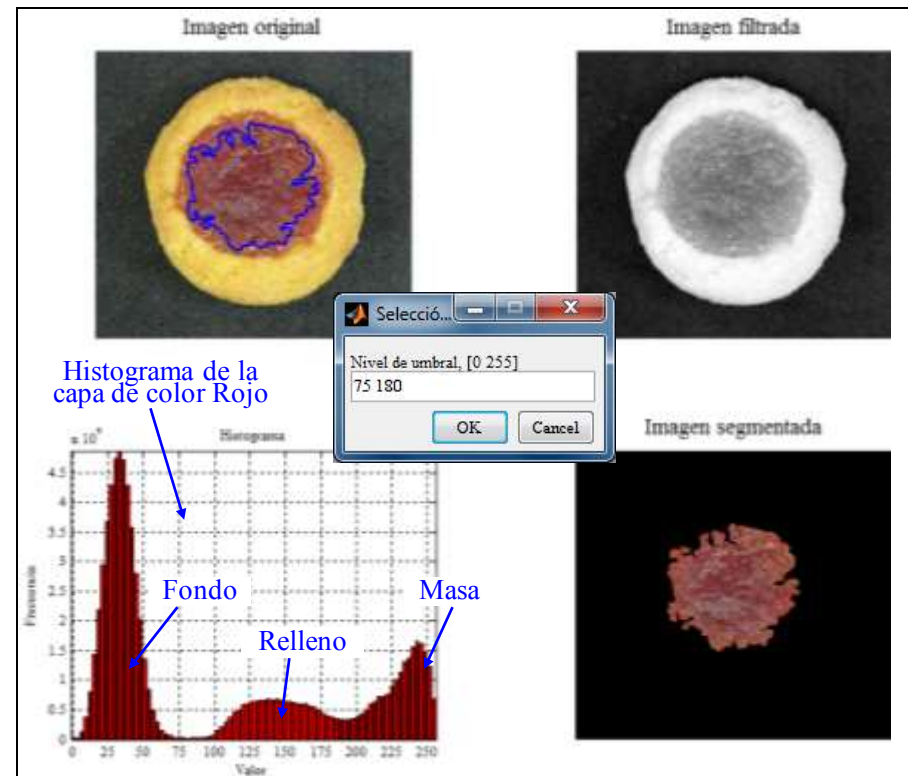


Figura 4: Ejemplo del proceso de segmentación sobre una muestra de galletita rellena, usando la capa de color rojo. Los valores de umbrales se seleccionaron visualmente a partir del histograma. El contorno de la máscara obtenida se muestra sobre la imagen original.

El botón de acción "Antitransformar" invierte la transformación; la **Figura 6** muestra el resultado obtenido para el ejemplo. En este caso, la inversa de la transformación cuadrática más interacciones

es no-lineal, por lo cual se resuelve numéricamente, solo para la máscara (en este caso, 305163 ecuaciones). Como puede verse en la **Figura 6**, la imagen antitransformada es muy similar a la imagen original. Dado que las transformaciones son empíricas, se pueden obtener valores fuera de rango, en cuyo caso se obtienen mensajes de advertencia en la ventana de comandos.

Además de las pruebas de calibración, se realizaron mediciones de color de 24 muestras de alimentos de diferente naturaleza y color (bizcochuelo, salchichón primavera, galletitas de diferentes colores, etc.) usando tanto un colorímetro digital (Minolta, CR-400) como el sistema de visión computacional, usando el modelo cuadrático más interacciones. La **Figura 7** muestra la correlación obtenida, para las 24 muestras y los 24 parches de color del patrón. Las medidas de errores combinados fueron $|\Delta L^*| = 1.37$, $|\Delta a^*| = 1.37$, $|\Delta b^*| = 1.89$ y $\Delta E = 3.20$.

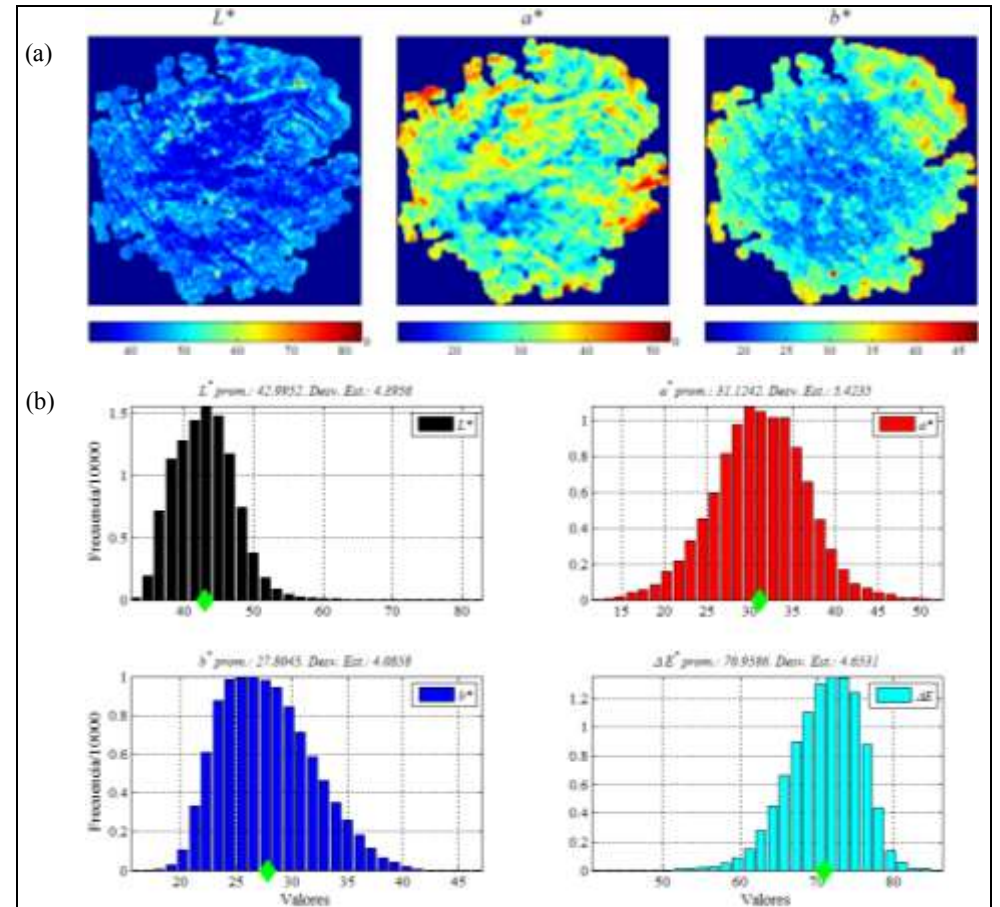


Figura 5: (a) Resultados de $L^*a^*b^*$ en forma de superficie coloreada. (b) Histograma de valores $L^*a^*b^*$, y ΔE respecto a la referencia por defecto.

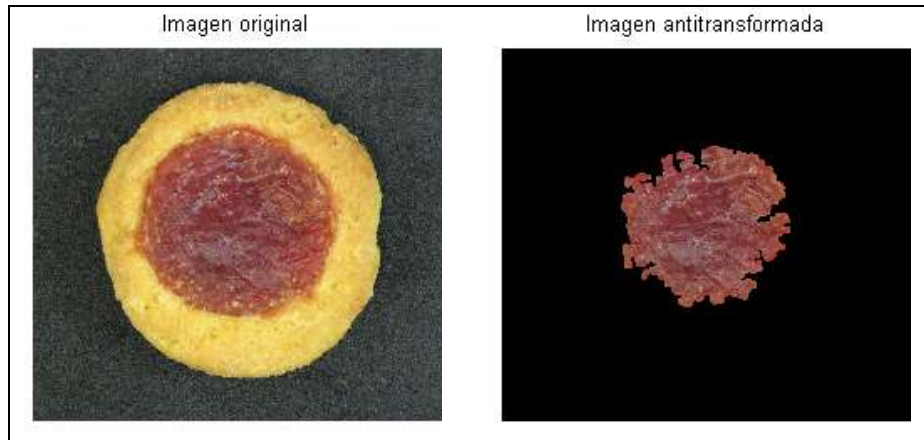


Figura 6: Antitransformada del modelo cuadrático más interacciones, sobre la máscara seleccionada.

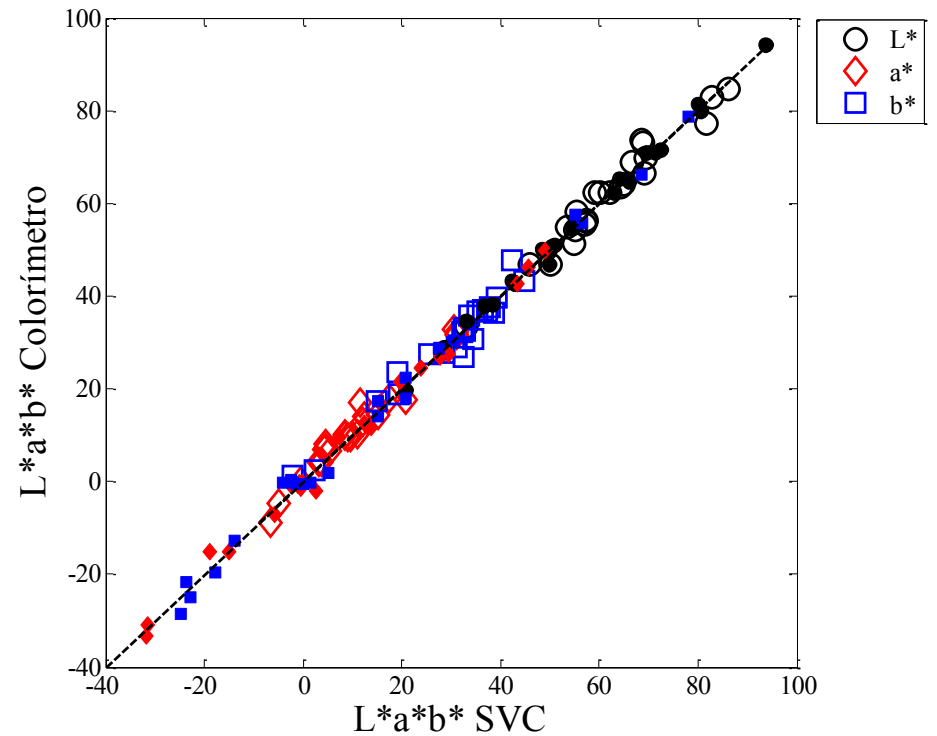


Figura 7: Correlaciones entre los valores medidos con el SVC (usando el modelo cuadrático más interacciones) y el colorímetro. Símbolos llenos: Calibración; Símbolos vacíos: Muestras adicionales de alimentos.

Otra ventaja del sistema de visión computacional desarrollado es que permite determinar el color de muestras pequeñas, las cuales serían muy difíciles de medir usando un colorímetro. A modo de ejemplo, en la **Figura 8** se muestra la medición de color de granos de soja crudos.

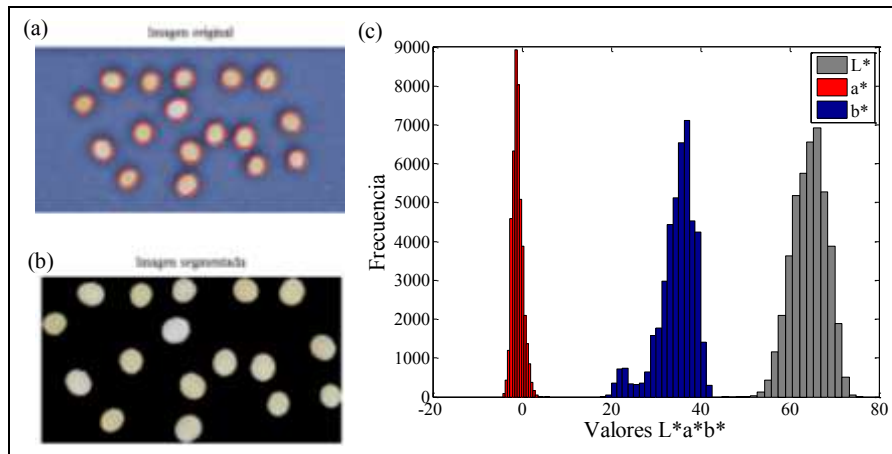


Figura 8: Determinación de color de granos de soja. (a) Imagen original. (b) Imagen segmentada. (c) Histograma de valores $L^*a^*b^*$ obtenida usando el SVC con el modelo cuadrático más interacciones.

Interfaz para transformación $L^*a^*b^*$ a RGB

Se desarrolló adicionalmente una interfaz para realizar comparaciones de color, la cual permite ver estimativamente como se vería un objeto con unos dados parámetros de color $L^*a^*b^*$. Se pueden definir valores de $L^*a^*b^*$ en dos campos diferentes, por lo cual se mostrarán dos imágenes. En un campo se pueden poner los valores obtenidos usando el sistema de visión computacional, y en el otro los valores obtenidos usando el colorímetro. Girolami *et al.* (2013) realizaron comparaciones de este tipo, y encontraron importantes diferencias entre los resultados obtenidos usando ambos enfoques para muestras de productos cárneos crudos.

Adicionalmente, se puede leer una imagen y graficarla conjuntamente, para realizar una comparación visual. La **Figura 9** muestra la imagen usada como ejemplo, y como se vería una imagen obtenida invirtiendo los valores $L^*a^*b^*$ promedio obtenidos previamente.

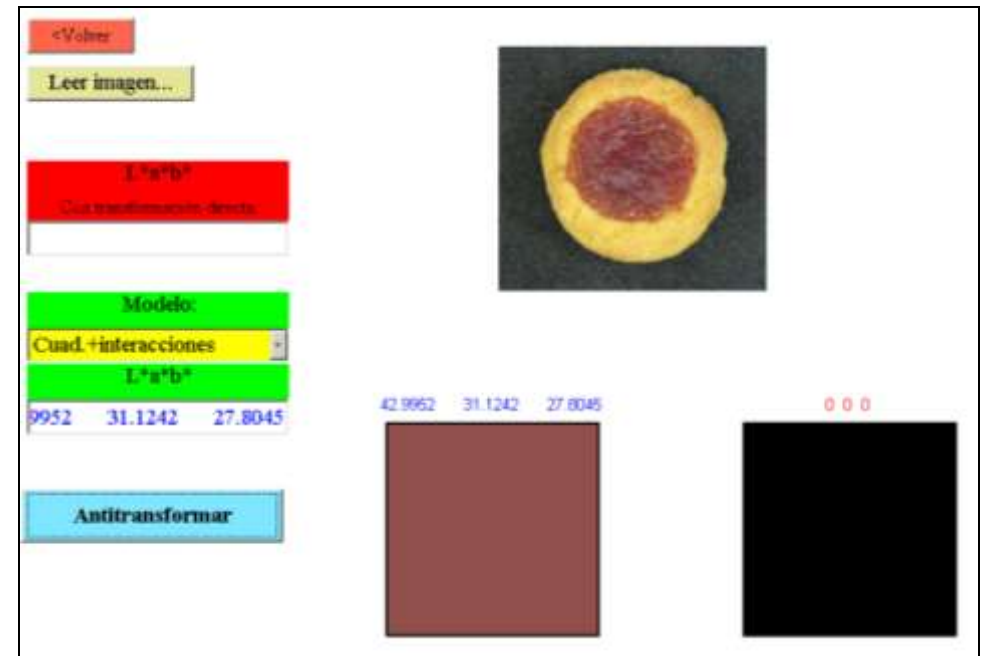


Figura 9: Comparación de imágenes obtenidas antitransformando valores $L^*a^*b^*$.

CONCLUSIONES

Se desarrolló un programa para realizar mediciones de color en el espacio *CIELAB* a partir de imágenes digitales en el espacio de color *RGB*. El programa se presenta como interfaces gráficas, para facilitar su utilización. Se implementaron varios modelos para realizar la transformación entre espacios de color, y se desarrolló una interfaz para realizar la calibración de los mismos, usando una carta de colores X-Rite ColorChecker. Los modelos de transformación implementados fueron calibrados satisfactoriamente. Se realizaron mediciones de color sobre muestras de diferentes alimentos y los valores $L^*a^*b^*$ obtenidos se compararon exitosamente con mediciones realizadas usando un colorímetro digital. Es importante destacar que el sistema desarrollado no requiere obligatoriamente el uso de un colorímetro para realizar la calibración, dado que los valores de referencia del patrón de colores se pueden obtener de bibliografía.

BIBLIOGRAFÍA

- Brosnan T, Sun D-W. 2004. Improving quality inspection of food products by computer vision—a review. *Journal of Food Engineering*, 61, 3-16.
- Dowlati M, Mohtasebi SS, Omid M, Razavi SH, Jamzad M, de la Guardia M. 2013. Freshness assessment of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) by machine vision based on gill and eye color changes. *Journal of Food Engineering*, 119, 277-287.
- Girolami A, Napolitano F, Faraone D, Braghieri A. 2013. Measurement of meat color using a computer vision system. *Meat Science*, 93, 111-118.
- Goñi SM, Olivera DF, Salvadori VO. 2014. Determinación de color en el espacio *CIELAB* a partir de imágenes digitales. *FoodInnova 2014, International Conference on Food Innovation*. Concordia, Entre Ríos, Argentina, 20-23 Octubre, 2014.
- Gonzalez RC, Woods RE. 2002. *Digital Image Processing (2nd Ed.)*. New Jersey, Prentice Hall.
- Hosseinpour S, Rafiee S, Mohtasebi SS, Aghbashlo M. 2013. Application of computer vision technique for on-line monitoring of shrimp color changes during drying. *Journal of Food Engineering*, 115, 99-114.
- IEC 61966-2-1. 1999. *Colour Measurement and Management in Multimedia Systems and Equipment - Part 2-1: Default RGB Colour Space - sRGB*. 1º Ed.
- Jackman P, Sun D-W, ElMasry G. 2012. Robust colour calibration of an imaging system using a colour space transform and advanced regression modeling. *Meat Science*, 91, 402-407.

Larraín RE, Schaefer DM, Reed JD. 2008. Use of digital images to estimate CIE color coordinates of beef. *Food Research International*, 41, 380-385.

Lee D-J, Archibald JK, Chang Y-C, Greco CR. 2008. Robust color space conversion and color distribution analysis techniques for date maturity evaluation. *Journal of Food Engineering*, 88, 364-372.

León K, Merry D, Pedreschi F, León J. 2006. Color measurement in L*a*b* units from RGB digital images. *Food Research International*, 39, 1084-1091.

Mendoza F, Dejmek P, Aguilera JM. 2006. Calibrated color measurement of agricultural foods using image analysis. *Postharvest Biology and Technology*, 41, 285-295.

Pace B, Cefola M, Renna F, Renna M, Serio F, Attolico G. 2013. Multiple regression models and Computer Vision Systems to predict antioxidant activity and total phenols in pigmented carrots. *Journal of Food Engineering*, 117, 74-81.

Pascale D. 2006. RGB Coordinates of the Macbeth ColorChecker. <http://www.babelcolor.com/download/RGB%20Coordinates%20of%20the%20Macbeth%20ColorChecker.pdf> (accedido 30/10/2013).

Purlis E, Salvadori VO. 2007. Bread browning kinetics during baking. *Journal of Food Engineering*, 80, 1107-1115.

Purlis E, Salvadori VO. 2009. Modelling the browning of bread during baking. *Food Research International*, 42, 865-870.

Romani S, Rocculi P, Mendoza F, Della Rosa M. 2009. Image characterization of potato chip appearance during frying. *Journal of Food Engineering*, 93, 487-494.

Valous NA, Mendoza F, Sun D-W, Allen P. 2009. Colour calibration of a laboratory computer vision system for quality evaluation of pre-sliced hams. *Meat Science*, 81, 132-141.

Wu D, Sun D-W. 2013. Colour measurements by computer vision for food quality control - A review. *Trends in Food Science and Technology*, 29, 5-20.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se financió con fondos provenientes de la UNLP (111183) y PICT 2013-1637. Los autores agradecen al Dr. R. M. Torrez Irigoyen por las muestras de granos de soja.

ANÁLISIS DE LA ACEPTABILIDAD SENSORIAL DE ACEITES MEZCLA GIRASOL: CHÍA EN FUNCIÓN DE LA COMPOSICIÓN Y LA ADICIÓN DE ANTIOXIDANTES

Guiotto E.N.^{1,2}, Ixtaina V.Y.¹, Nolasco S.M.², Tomás M.C.¹

1: Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata – CONICET, Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA), La Plata, Buenos Aires, Argentina.

2: TECSE- Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Olavarría, Buenos Aires, Argentina.
snolasco@fio.unicen.edu.ar

Resumen: La mezcla de diferentes proporciones de aceites de girasol y chía proporciona un método simple para preparar aceites comestibles con una amplia gama de composición de ácidos grasos deseada. El análisis sensorial de las mezclas de aceite de girasol-chía (90:10 y 80:20 p/p) se llevó a cabo para evaluar el grado de aceptabilidad de estos aceites sin y con la adición de antioxidantes, tales como palmitato de ascorbilo (AP, 2000 ppm), extracto de romero (ER, 5000 ppm) y sus mezclas (AP: ER, 2000: 2.000 ppm). El grado de aceptación fue similar tanto para los aceites mezcla sin antioxidantes como para el aceite de girasol. Todas las mezclas de aceite mostraron una buena aceptación. La adición de antioxidantes (ER, AP: ER) mostró cierta influencia en el sabor posiblemente debido a los compuestos presentes en el extracto de romero (ER), mientras que el aceite

mezcla con AP mostró significativamente una mayor aceptabilidad ($p \leq 0,05$).

Palabras clave: Aceites mezcla, girasol:chía, antioxidantes, aceptabilidad sensorial

Abstract: The mixture of different proportions of sunflower with chia oil provides a simple method to prepare edible oils with a wide range of desired fatty acid composition. Sensory analysis of sunflower-chia oil blends (90:10 and 80:20 wt/wt) was carried out to assess the grade of acceptability of these oils without and with the addition of antioxidants, such as ascorbyl palmitate (AP, 2000 ppm), rosemary extract (ER, 5000 ppm), and their mixtures (AP:ER, 2000:2000 ppm). The acceptance grade was similar for oil blends control (without antioxidants) and sunflower oil. All oil blends showed good acceptance, the addition of antioxidants (ER, AP: ER) showed some influence on the taste probably due to the compounds present in the rosemary extract (ER), while oil blend with AP showed significantly high acceptability ($p \leq 0.05$).

Keywords: Oil blends, sunflower: chia, antioxidants, sensory acceptability

INTRODUCCIÓN

La calidad de un alimento está asociada a diferentes aspectos tales como la cantidad y biodisponibilidad de nutrientes (Pachón *et al.* 2009) y aspectos de seguridad sanitaria. Sin embargo, lo que determinará la aceptación o rechazo del mismo está relacionado con la percepción subjetiva del consumidor, es decir aspectos vinculados a la preferencia como color, sabor, textura, consistencia así como presentación del producto (Liria 2007). Por ello es importante que al introducir un alimento al mercado o cambiar algún aspecto del mismo, se realicen pruebas sensoriales con el grupo al cual va dirigido el alimento.

La evaluación sensorial es una disciplina de la química analítica de los alimentos que se ocupa de los métodos y procedimientos de medición en los cuales los órganos sensoriales de la vista, el olfato, el oído, el gusto y el tacto constituyen el instrumento (Espinilla *et al.* 2008).

Los aceites vegetales comestibles constituyen un componente importante en nuestra alimentación, cuya variedad y consumo depende de la disponibilidad de la materia prima en cada país y región. Los Comités Internacionales de Nutrición y Alimentación convocados por la FAO/OMS han establecido que las grasas/aceites en general, no deberían aportar más de un 30% de las calorías totales que consume un adulto. Además, recomiendan que la distribución de consumo de los distintos tipos de ácidos grasos corresponda a un aporte del 10% por parte de los ácidos grasos saturados (AGS), 10% de los ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) y 10% de los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI). "Estos lineamientos representan una

relación 1:1:1 entre AGS, AGMI y AGPI. Además, la relación de AGPI ω -6 y de AGPI ω -3 debería estar en el rango de 5:1 a 10:1 como máximo" (FAO/WHO 1997).

El aceite de girasol (*Helianthus annuus* L.) es uno de los más consumidos en Argentina. Así, aproximadamente 2 millones de t de la producción nacional de este cultivo, se orientan al consumo doméstico. Cabe señalar que el aceite de girasol convencional contiene > 85% de ácidos grasos insaturados, representando el ácido linoleico (ω -6) más de dos tercios del total de los ácidos grasos (Gunstone 2002). No obstante, si bien el aceite de girasol goza de la preferencia de los consumidores argentinos no existe aún una diferenciación neta del producto en lo que hace a sus atributos para el cuidado de la salud.

El aceite proveniente de la semilla de chía (*Salvia hispanica* L.) es una fuente interesante de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), presenta el mayor tenor de ácido α -linolénico (ω -3 C18:3) conocido hasta el momento (61–70%), variable según factores ambientales, tales como la temperatura, luz y tipo de suelo. Este ácido graso (ω -3) es esencial para el crecimiento y el desarrollo normal del organismo humano (Ayerza 1995, Ixtaina *et al.* 2012).

La mezcla de aceites vegetales con diferente composición de ácidos grasos puede constituir una forma sencilla y económica para obtener aceites con una relación de ácidos grasos ω -6: ω -3 cercana a la recomendada por la FAO/OMS.

Por otra parte, existen en el mercado varios antioxidantes de origen natural y sintético que permiten retardar o prevenir el deterioro oxidativo de los alimentos grasos. Los extractos vegetales, generalmente utilizados contienen nutrientes que junto con las vitaminas C, E y los carotenoides potencian la actividad antioxidante (Brewer 2011). El extracto de romero se obtiene a partir de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. Los

antioxidantes presentes en el mismo son ácido carnósico, carnosol, rosmanol, epirosmanol e isorosmanol. El palmitato de ascorbilo es un derivado sintético del ácido ascórbico, dicho antioxidante es considerado GRAS y en Estados Unidos no se han fijado aún restricciones sobre sus niveles de uso. Este antioxidante es hidrolizado en el sistema digestivo para proveer ácidos ascórbico y palmítico, nutricionalmente disponibles (Brewer 2011, Ixtaina *et al.* 2012).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la influencia de la composición de aceites mezcla girasol:chía (80:20, 90:10 p/p) y la adición de antioxidantes (ER, AP y ER:AP 1:1) sobre la aceptabilidad sensorial de los mismos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aceites y antioxidantes

Los aceites utilizados en este estudio fueron aceite de chía (Nutracéutica Sturla S.R.L., Argentina), obtenido por prensado en frío y aceite refinado de girasol (Molinos Río de la Plata S.A., Argentina)

El extracto de romero (GUARDIAN™ 08) y el palmitato de ascorbilo (GRINDOX™ 562) fueron suministrados por Danisco.

El extracto de romero utilizado (forma oleosoluble) es un antioxidante natural, compuesto por 4% (p/p) de diterpenos fenólicos y un vehículo constituido por mono- y diacilgliceroles; ésteres de ácido acético de mono y diacilgliceroles y propilenglicol. GRINDOX™ 562 es un antioxidante sintético, soluble en grasas y aceites constituido por una mezcla de 10% de palmitato de ascorbilo y 90% de un "carrier" compuesto por

propilenglicol y monoleato de sorbitán como agente emulsificante.

Preparación de las muestras

Se prepararon mezclas de aceites de girasol y de chía (G-C 90:10, 80:20 p/p) mediante agitación durante 5 min para lograr su homogeneización. Posteriormente, cada mezcla se fraccionó en tres porciones. Cada una de ellas fue adicionada con palmitato de ascorbilo (AP), extracto de romero (ER) y su mezcla AP:ER (1:1) en las siguientes concentraciones: 5000, 2000 y 2000:2000 ppm, respectivamente.

Las soluciones madre de palmitato de ascorbilo y extracto de romero se prepararon a partir de las correspondientes mezclas de aceite en una relación antioxidante:aceite 1:10. Las concentraciones previamente mencionadas fueron alcanzadas mediante el agregado de la cantidad correspondiente de solución madre en las mezclas de aceite G-C. Dichos antioxidantes y sus concentraciones fueron seleccionados en base al estudio realizado por Ixtaina *et al.* (2012) sobre la estabilidad oxidativa y la conservación del aceite de chía, teniendo en cuenta las normativas vigentes del Código Alimentario Argentino (CAA 2008) y *Codex Alimentarius* (1999).

Composición de ácidos grasos mediante cromatografía gaseosa (CG-FID)

La identificación y cuantificación de ácidos grasos de los aceites se llevó a cabo por cromatografía gaseosa, de acuerdo a los métodos IUPAC 2.301 y 2.302 (1992). Los aceites crudos (100 µL) fueron saponificados con 1 mL de solución de KOH 10% en

metanol mediante reflujo a 85°C durante 45 min. El material insaponificable se extrajo con hexano. Luego de la acidificación con HCl, los ácidos grasos hidrolizados fueron extraídos de la fase metanólica con éter de petróleo y se metilaron con 1 mL de trifluoruro de boro (solución al 20% en metanol, Merck) en 1 mL de metanol a 60°C durante 45 min. Los ésteres metílicos de los ácidos grasos (FAME) se obtuvieron a partir de la fase metanólica con hexano.

Análisis por CG: la mezcla de FAME se analizó en un cromatógrafo de gases (Hewlett Packard 6890, Canadá) equipado con detector de ionización de llama. La separación se realizó en una columna capilar Supelco 11090-02A Omegawax (30 m x 0.250 mm, diámetro interno 25 µm) a 175 – 220°C (3°C/min) empleando helio como gas portador (25,1 psi) y detector de llama a 260°C (Christie 2003). El contenido de cada uno de los ácidos grasos identificados se expresó como valor porcentual en relación al contenido total de los mismos.

Análisis sensorial

Se realizó la evaluación sensorial de los aceites mezcla G-C mediante ensayos de aceptabilidad sensorial empleando el método de la escala hedónica de 9 puntos, utilizando un panel de evaluadores no entrenados. Así, cuando se quiere saber cuál es el grado de aceptabilidad sensorial de un producto, se deben utilizar escalas hedónicas en la que el consumidor expresa su reacción subjetiva ante el producto, indicando si le gusta o le disgusta, si lo acepta o lo rechaza y la marca realizada sobre dicha escala por el consumidor se transforma en puntaje para el análisis de los resultados. A través de este proceso, la evaluación sensorial se transforma en una ciencia cuantitativa basada en

análisis estadísticos, modelos, predicciones y teorías (Lawless y Heymann 1998).

Los atributos mediante los cuales se evaluó el motivo de la preferencia o el rechazo de los aceites vegetales mezcla por parte del consumidor fueron apariencia, aroma, sabor y aceptabilidad global. En primer lugar se realizó un ensayo de aceptabilidad sensorial mediante el que se comparó el grado de aceptación del aceite de girasol y los aceites mezcla con el agregado de 10 y 20% de aceite de chía. Luego, se realizó otro ensayo de aceptabilidad sensorial evaluándose la presencia de los diferentes antioxidantes utilizados.

Preparación de las muestras

Como soporte para la degustación de los aceites se utilizaron cubos de papas de 1 cm³ hervidos durante 5 – 6 min en agua con 0,22% de sal. Una vez obtenidas las papas hervidas, las mismas fueron divididas en porciones de 500 g y se les adicionó 75 mL del aceite mezcla correspondiente. Luego las muestras se sirvieron a temperatura ambiente, en vasos de plástico de 120 mL de color amarillo a fin de enmascarar posibles diferencias de color entre los aceites. Para cada evaluador se prepararon 3 vasos con tres cubos adicionados con aceite en cada uno.

Desarrollo de la prueba

Durante el primer análisis sensorial se prepararon 150 muestras, de las cuales 50 contenían la muestra A: aceite puro de girasol, 50 la muestra B: aceite mezcla G-C 80:20 v/v y 50 la muestra C: aceite mezcla G-C 90:10 v/v. Las seis combinaciones posibles (ABC, ACB, BAC, BCA, CAB, CBA) fueron distribuidas al azar entre

los evaluadores. Las muestras se codificaron con tres números de tres dígitos obtenidos a partir de la tabla de números aleatorios. Para el segundo análisis sensorial se prepararon 200 muestras, de las cuales 50 contenían G-C control (A); 50 G-C + AP (B); 50 G-C + ER (C) y 50 G-C + APER (D). Las 24 combinaciones posibles fueron asignadas al azar a los evaluadores. Las muestras se codificaron con cuatro números de tres dígitos obtenidos a partir de la tabla de números aleatorios.

El ensayo se llevó a cabo en las instalaciones del CIDCA en cuanto a la preparación de las muestras y a su evaluación. La prueba se efectuó entre las 11 y las 13 h. La degustación se realizó en grupos de 3 a 5 personas, ubicadas espaciadamente para evitar la comunicación entre los evaluadores.

A cada evaluador se le entregó una bandeja conteniendo las muestras junto con la planilla de evaluación (**Figura 1**). Se proporcionó agua potable a temperatura similar a la de las muestras, como agente neutralizante para el enjuague bucal entre muestras. A los evaluadores se les indicó que se concentraran en el aceite y examinaran primero los atributos de una muestra y luego recién los de las siguientes.

ACEPTABILIDAD DE ACEITES POR ATRIBUTOS	
Nombre:.....	Fecha:/...../.....
Evaluador N°:.....	
Utilizando la siguiente escala, por favor evalúe la aceptabilidad de cada atributo. Concéntrese en el aceite y no en las papas, evalúe todos los atributos de cada muestra y luego recién prueba la siguiente.	
MUESTRA N° 506	Disgusta
Gusta	
Apariencia	□ □ □ □ □ □ □ □
Aroma	□ □ □ □ □ □ □ □
Sabor	□ □ □ □ □ □ □ □
Aceptabilidad global	□ □ □ □ □ □ □ □
MUESTRA N° 821	Disgusta
Apariencia	□ □ □ □ □ □ □ □
Aroma	□ □ □ □ □ □ □ □
Sabor	□ □ □ □ □ □ □ □
Aceptabilidad global	□ □ □ □ □ □ □ □
MUESTRA N° 297	Disgusta
Gusta	
Apariencia	□ □ □ □ □ □ □ □
Aroma	□ □ □ □ □ □ □ □
Sabor	□ □ □ □ □ □ □ □
Aceptabilidad global	□ □ □ □ □ □ □ □
MUCHAS GRACIAS POR TU PARTICIPACIÓN!!!	

Figura 1: Planilla de evaluación confeccionada y utilizada en el análisis sensorial

Análisis de resultados

A fin de determinar si existían diferencias significativas entre las muestras, se realizó un análisis de varianza y se compararon las medias por el método llamado Mínima Diferencia Significativa (MDS o LSD "Least Significant Difference") de Fisher (nivel de confianza del 95%). El programa empleado fue Statgraphics Plus (Versión 4.0 para Windows, Manugistics Inc., USA, 1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de los aceites y de sus mezclas

El grado de insaturación de los aceites está determinado por su perfil de ácidos grasos, siendo más susceptibles a la oxidación a medida que aumenta el tenor porcentual de ácidos grasos insaturados y el número de dobles enlaces de su cadena hidrocarbonada (Padley 1994).

La composición de ácidos grasos presentes en los aceites de girasol, chía y sus mezclas G-C con y sin el agregado de antioxidantes se presenta en la **Tabla 1**. Puede observarse la diferencia en el contenido de ácidos grasos de los diferentes aceites estudiados. El aceite refinado de girasol (obtenido por extracción sólido-líquido) tiene un perfil que consiste principalmente en ácidos linoleico (C 18:02, ω -6) (54,4%) y oleico (C 18:01, ω -9), el que representa el 36,6% del total de ácidos grasos. El aceite de chía (obtenido por prensado en frío) presenta un perfil constituido principalmente por ácido α -linolénico (C 18:03, ω -3), el cual representa ~ 65% de los ácidos grasos totales. Estos resultados son similares a los informados en la literatura (Ixtaina *et al.* 2012). Las mezclas G-C 80:20 y 90:10 p/p

sin antioxidantes contienen aproximadamente 17,4 y 9,0% de C18:3, lo cual corresponde a una relación ω -6: ω -3 de 2,7:1 y 5,3:1, respectivamente. Dichas relaciones ω -6: ω -3 se encuentran cercanos o igual a los valores recomendados por la FAO/OMS (1997).

Tabla 1: Composición de ácidos grasos (%) correspondientes a los diferentes sistemas constituidos por aceite de girasol, chía y sus mezclas con y sin el agregado de antioxidantes

Aceite	Ácidos grasos (%)					
	Palmitico 16:0	Esteárico 18:0	Oleico 18:1 ω 9	Linoleico 18:2 ω 6	Linolénico 18:3 ω 3	Relación ω 6/ ω 3
Girasol	6,65 ^a	2,31 ^a	36,62 ^d	54,43 ^d	nd	nd
Chía	7,05 ^a	2,11 ^a	6,28 ^a	19,40 ^a	65,17 ^c	0,30 ^a
G-C 80:20	7,56 ^a	2,28 ^a	26,06 ^b	46,71 ^b	17,40 ^b	2,68 ^b
G-C 80:20 AP	7,09 ^a	2,06 ^a	27,24 ^b	47,21 ^b	17,40 ^b	2,71 ^b
G-C 80:20 ER	6,58 ^a	2,16 ^a	26,45 ^b	47,07 ^b	17,76 ^b	2,65 ^b
G-C 80:20 AP:ER	7,78 ^a	2,30 ^a	26,24 ^b	47,04 ^b	16,64 ^b	2,82 ^b
G-C 90:10	7,31 ^a	2,08 ^a	34,57 ^{cd}	48,01 ^{bc}	9,04 ^a	5,31 ^c
G-C 90:10 AP	6,88 ^a	2,30 ^a	32,11 ^{cd}	49,18 ^{bc}	9,54 ^a	5,15 ^c
G-C 90:10 ER	6,58 ^a	2,08 ^a	30,45 ^{bc}	50,91 ^{bcd}	9,99 ^a	5,10 ^c
G-C 90:10 AP:ER	6,44 ^a	2,43 ^a	30,66 ^{bc}	51,09 ^{bcd}	9,59 ^a	5,32 ^c

Valores promedio (n=2). Letras distintas en una columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre sistemas para cada ácido graso. nd: no detectado.

AP: Palmitato de ascorbilo, ER: Extracto de romero.

Análisis sensorial

El primer ensayo sensorial de aceptabilidad se llevó a cabo para conocer si las formulaciones de los aceites mezcla G-C 90:10 y 80:20 p/p eran aceptadas por los consumidores. En la **Tabla 2** se muestran los resultados obtenidos, donde puede observarse que las diferentes formulaciones registraron valores promedio localizados entre los puntos hedónicos 6,6 y 7,4. Así, los diferentes aceites evaluados presentaron una buena aceptabilidad en todos los atributos, no habiéndose registrado diferencias significativas ($p \geq 0,05$) entre los diferentes aceites estudiados.

Tabla 2: Puntaje promedio obtenido por cada atributo en el primer ensayo de aceptabilidad sensorial

	Apariencia	Aroma	Sabor	Aceptabilidad global
Girasol	7,2 ± 1,6 ^a	7,2 ± 1,4 ^a	6,9 ± 1,6 ^a	7,1 ± 1,5 ^a
G-C 80:20	7,4 ± 1,4 ^a	7,0 ± 1,5 ^a	6,9 ± 1,8 ^a	7,1 ± 1,5 ^a
G-C 90:10	7,2 ± 1,6 ^a	6,6 ± 1,8 ^a	6,8 ± 1,7 ^a	6,9 ± 1,7 ^a

Valores promedio ± DS (n = 50). Para cada atributo, valores promedio seguidos de letras idénticas no difieren significativamente entre sí ($p \geq 0,05$)

Debido a la buena aceptación del aceite mezcla G-C 80:20 v/v obtenida a partir del primer análisis sensorial, el mismo fue seleccionado para llevar a cabo la segunda evaluación. El objetivo del siguiente análisis sensorial fue determinar el grado de aceptación de los diferentes antioxidantes utilizados (AP, ER y AP:ER).

En la **Tabla 3** pueden verse los resultados obtenidos, evidenciando que no existen diferencias significativas ($p \geq 0,05$) en los atributos apariencia y aroma entre las diferentes muestras estudiadas, mientras que para el sabor y aceptabilidad las muestras sin antioxidantes y con AP presentaron significativamente una mayor aceptabilidad que aquellas con ER y AP:ER ($p \leq 0,05$).

Tabla 3: Puntaje promedio obtenido para cada atributo en el segundo ensayo de aceptabilidad sensorial

G-C 80:20 p/p	Apariencia	Aroma	Sabor	Aceptabilidad global
Sin antioxidante	7,2 ± 1,4 ^a	6,8 ± 1,6 ^a	7,0 ± 1,4 ^b	7,1 ± 1,5 ^b
AP	7,0 ± 1,7 ^a	6,8 ± 1,8 ^a	6,9 ± 1,8 ^b	6,9 ± 1,6 ^b
ER	6,9 ± 1,8 ^a	6,4 ± 1,9 ^a	5,7 ± 2,3 ^a	5,9 ± 2,1 ^a
AP:ER	7,0 ± 1,6 ^a	6,4 ± 1,6 ^a	6,0 ± 2,3 ^a	6,1 ± 1,9 ^a

Valores promedio ± DS (n = 50). Para cada atributo, valores promedio seguidos de letras idénticas no difieren significativamente entre sí ($p \geq 0,05$)

CONCLUSIONES

La composición de ácidos grasos de los aceites mezcla girasol-chía indica que puede lograrse una relación óptima de ácidos grasos esenciales ω -6/ ω -3 con una proporción de aceite de chía de 10 y 20% p/p, acorde a los lineamientos de la FAO/OMS.

La evaluación sensorial de los aceites mezcla G-C estudiados indicó una buena aceptabilidad de los mismos en atributos tales como apariencia, aroma, sabor. Además, no se registraron diferencias significativas ($p \geq 0,05$) entre los distintos aceites mezcla sin antioxidante (G-C 80:20, G-C 90:10 p/p). La incorporación de antioxidantes (ER, AP:ER) a dichos sistemas evidenció una cierta influencia en el sabor debido posiblemente a los compuestos presentes en el extracto de romero (ER), mientras que los aceites con AP presentaron significativamente una mayor aceptabilidad ($p \leq 0,05$).

BIBLIOGRAFÍA

Ayerza R (Jr). 1995. Oil Content and Fatty Acid Composition of Chía (*Salvia hispanica* L.) from Five Northwestern Locations in Argentina. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 72: 1079-1081.

Brewer M S. 2011. Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10(4): 221-247.

Christie W W (2003). *Lipid analysis: Isolation, separation, identification, and structural analysis of lipids* (3rd ed). Oily Press, Bridgwater (UK).

Codex Alimentarius Commission: Codex Stan. 1999. Codex standard for edible fats and oils not covered by individual standards. Codex Stan 19-1981, Rev 2-1999. http://www.codexalimentarius.net/web/standard_list.do (acceso 08/2013).

Código Alimentario Argentino, CAA (2008). Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos y Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. www.anmat.gov.ar/codigoa/Capitulo_XI.pdf (acceso 07/2013).

Espinilla, M., Martínez, L., Pérez, L. G., & Liu, J. 2008. Modelo de Evaluación Sensorial con Información Lingüística Multigranular para el Aceite de Oliva.

FAO/WHO Food Agricultural Organization/World Health Organization of the United Nations. 1997. Food and nutrition paper n° 57. Fats and oils in human nutrition report of a joint expert consultation FAO/OMS. *Las Grasas y Aceite en la Nutrición*

Humana. Informe de una consulta de expertos. Roma. <http://www.fao.org/docrep/V4700S/v4700s00.htm> (acceso 8//2014).

Gunstone F D. 2002. Vegetable oils in food technology: composition, properties and uses. Ed. Blackwell Publishing, CRC Press, Oxford (UK).

Ixtaina V Y, Nolasco S M, Tomás M C. 2012. Oxidative Stability of Chía (*Salvia hispanica* L.) Seed Oil: Effect of Antioxidants and Storage Conditions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89: 1077-1090.

Lawless H T, Heymann H. 1998. *Sensory Evaluation of Food: Practices and Principals*.

Liria, MR. 2007. *Guía para la evaluación sensorial de alimentos*. Cali, Colombia. Centro Internacional de Agricultura Tropical. 22 p.

Pachón, H; Ortiz, DA; Araujo, C; Blair, MW; Restrepo, J. 2009. Iron, zinc and protein bioavailability proxy measures of meals prepared with nutritionally enhanced beans and maize. *Journal of Food Science* 74(5):H147-H154.

Padley F B. 1994. Occurrence and Characteristics of Oils and Fats, *EnThe Lipid Handbook* (Gunstone FD, Harwood J L, Padley F B, eds.) pp. 47–146.

Statgraphics Plus Version 4.0. 1999. Statistical Graphic Corporation. Manugistics Inc., Rockville (USA).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Danisco por la provisión de los antioxidantes. El presente trabajo fue financiado con el apoyo de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT, PICT 1085), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (PIP 1735 CONICET) y la Universidad Nacional de La Plata (11/X610 UNLP).

EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO REOLÓGICO Y SINÉRESIS DE FLANES SIN HUEVO

Ibarra G.¹, Masó I.¹, Fochessatto C.¹, Schelover P.¹, Kramer C.¹, Ríos R.¹, Ramos N.A.G.¹

1: Fisicoquímica, Departamento de Tecnología, Universidad Nacional de Luján, Ruta 5 y Av. Constitución, Luján, Prov. de Buenos Aires, Argentina.

gustavo_ibarra20@hotmail.com

Resumen: Los flanes sin huevo son emulsiones gelificadas de variadas texturas, que presentan fenómenos de desestabilización como son el cremado y la sinéresis. Se propone la utilización de la kappa-carragenina (κ C) y la goma espina corona (EC) con el objetivo de minimizar los fenómenos de sinéresis. Se formularon con EC- κ C al 0,4% (p/p), en las siguientes proporciones EC- κ C: 0:100, 25:75, 50:50, 75:25 y 100:00. La sinéresis se determinó por método gravimétrico durante 30 días de almacenamiento. Las propiedades viscoelásticas se determinaron, variando la frecuencia de oscilación entre 0,1 y 100 Hz en un reómetro Anton Paar Physica MCR 301. La microestructura de las muestras se analizó utilizando un microscopio óptico Arcano L 2000 A. Los resultados mostraron que todas las muestras presentaron un comportamiento tipo gel. La muestra EC- κ C 100:00 presentó mayor dependencia de G' con la frecuencia, por lo que resultó el gel más débil. La muestra de EC- κ C 0:100 mostró la menor dependencia de G' con la frecuencia, gel fuerte. Las muestras 50:50 y 75:25 presentaron valores de G' intermedios. La muestra EC- κ C 0:100 presentó el mayor grado de sinéresis. Se concluye

que es factible minimizar la sinéresis de flanes sin huevo mediante la incorporación de goma espina corona.

Palabras clave: flan, sinéresis, goma espina corona, kappa carragenina, reología.

Abstract: Creme caramels without egg are gelled emulsions which present destabilization phenomena such as syneresis. It is proposed the use of kappa carrageenan (κ C) and espina corona gum (EC) to minimize the syneresis phenomenon. The creme caramels were formulated with EC- κ C 0,4% (p/p) varying in the following ratios EC- κ C: 0:100, 25:75, 50:50, 75:25 y 100:0. Syneresis was determined by gravimetric method during 30 days storage. The rheological behavior was analyzed varying the oscillation frequency between 0,1 and 100 Hz, using an Anton Paar Physica MCR 301 rheometer. The microstructure was analyzed using an optic microscope Arcano L 2000 A. Results showed a gel behavior in every sample. The sample EC- κ C 100:0 showed more dependence of G' with the frequency, so it was the weakest gel. The sample EC- κ C 0:100 showed a reduced dependence of G' with the frequency, strong gel. The samples 50:50 y 75:25 showed intermediate values of G' . The sample EC- κ C 0:100 showed the highest syneresis value. It was concluded that it is possible to minimize the syneresis in creme caramels without egg through the incorporation of espina corona gum.

Keywords: Creme caramel, syneresis, espina corona gum, kappa - carrageenan, rheology.

INTRODUCCIÓN

La textura en los alimentos es un atributo tan importante como el sabor, convirtiéndose en un factor determinante para la aceptación de un producto por parte del consumidor. Los flanes sin huevo son alimentos de gran valor nutricional, considerados saludables. Estos productos, son emulsiones gelificadas de variadas texturas, son formulados en general con almidones y presentan fenómenos de desestabilización como son la retrogradación, el cremado y la sinéresis.

Con la finalidad de lograr las diferentes texturas y evitar estos fenómenos se utilizan almidones y gomas. La incorporación de polisacáridos no amiláceos incrementa la viscosidad y disminuye la retrogradación en los sistemas a base de almidón (Ferrero *et al.* 1994). La interacción entre las moléculas de almidón y los polisacáridos no amiláceos disminuye la retrogradación de los gránulos hinchados de almidón (Lai *et al.* 1999). Por otro lado Funami *et al.* 2005 demuestran que la incorporación de galactomananos a almidones disminuye los fenómenos de retrogradación de los mismos.

La formulación de productos con la goma espina corona, torna posible la utilización de los recursos naturales de la región.

A partir de las semillas de la leguminosa *Gleditsia amorphoides*, una especie nativa del norte y nordeste de la República Argentina (Palma *et al.* 1998) es extraída la goma espina corona. La goma espina corona (EC) es un galactomanano con un 28,6% de D-galactosa y 71,4% de D-manosa formando una cadena lineal de unidades β - (1 \rightarrow 4) manopiranosicas con unión en posición 6 de una molécula de D-galactopiranosica, con tres unidades de

manosa, relación manosa/galactosa de 2,5 a 2,7 (Cerezo-1965, Srivastava y Kapoor-2005). Los galactomananos son polisacáridos de aplicación muy diversa por sus propiedades espesantes (Srivastava y Kapoor-2005).

La κ -carragenina (κ C) es un polisacárido extraído de algas, y está compuesto por la alternancia de disacáridos de β -D-galactosa-4-sulfato y 3,6-anhidro- α -D-galactosa (Dunstan *et al.* 2001).

La κ carragenina, presenta una mayor solubilidad en agua caliente, durante la etapa del proceso de enfriamiento, alinea dos rollos helicoidales similares, de tal manera, que enfrenta sus grupos 4-sulfato. Normalmente, la fuerte negatividad de los grupos sulfato, causa repulsión de las cargas similares. Esto es neutralizado, en el caso del tipo kappa, por iones de potasio. Una vez que la neutralización ocurre, una fuerte interacción con el hidrogeno permite la formación de la doble hélice. Esta formación helicoidal puede ser tridimensional, dando mayor estructura al medio. Un enfriamiento posterior del sistema, permite una interacción adicional del hidrógeno de las dobles hélices de la kappa, las cuales, a su vez, causan un aumento en la fuerza del gel lo que aumenta la sinéresis. En presencia de concentraciones pequeñas de iones bivalentes (Ca^{++} , Mg^{++}), los geles resultan firmes y quebradizos, lo cuales también causa aumento de sinéresis (Fennema 2000).

Los procesos de gelificación de sistemas mixtos como los formados por las carrageninas, los galactomananos y los almidones, se ven afectados por las condiciones en que se dispersan en agua, como la concentración, la temperatura, el pH y la presencia de iones o proteínas.

La carragenina kappa es sinérgica con los galactomananos de la goma de algarrobo, en su estado semi-refinado o clarificado. Este sinergismo se demuestra en un gel con sinéresis y fragilidad

reducidas. El sinergismo de la mezcla ocurre debido a la interacción del hidrógeno entre la doble hélice de la carragenina kappa y los grupos oxidrilos de la polimanoza del galactomano. La sustitución irregular de las cadenas laterales de galactosa, actúa solamente para bloquear la estrecha asociación entre la carragenina y la base de manosa. Sin embargo, hay suficientes secciones "lineales" de los galactomananos, para asegurar la asociación. Los resultados dependen de, la naturaleza de la goma, la relación de la mezcla y la fuerza potencial de gelificación de la κ -carragenina (Funami *et al.* 2005, Imeson 2009).

Se propone el reemplazo parcial de la kappa-carragenina por goma espina corona, un galactomanano de origen nacional.

El objetivo fue minimizar los fenómenos de sinéresis y analizar el efecto de las distintas concentraciones de EC en el comportamiento reológico de flanes sin huevo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Formulación de los flanes

Los flanes fueron formulados con: 71,6% de agua destilada, 0,4% de la mezcla EC- κ C correspondiente, 4% de almidón nativo de papa, 16% de leche en polvo entera y 8% de azúcar refinado. Todos los ingredientes de calidad alimentaria.

Elaboración de los flanes

Se elaboraron dispersiones de EC y κ C al 0,4% (p/p) en las siguientes proporciones EC- κ C: 100:0, 75:25, 50:50, 25:75 y 0:100 en agua destilada a 85°C utilizando un equipo Ultra Turrax T25 a 11000 rpm durante un minuto y medio y a 19000 rpm durante

cuatro minutos. Se dejaron en reposo durante 12 horas a temperatura ambiente. Se preparó además un blanco formulado, sin presencia de EC ni κ C.

A estas dispersiones se les incorporó el almidón nativo de papa, la leche en polvo y el azúcar y se homogeneizó con agitación mecánica. Las muestras se colocaron a un baño de agua a 95°C hasta que la temperatura de estas alcanzó los 65 °C. Inmediatamente se llevaron a ebullición durante 1 minuto con agitación constante.

Todos los postres fueron realizados por duplicado.

Propiedades reológicas

Las muestras se midieron a las 48 horas de elaboración, en un reómetro de esfuerzo de corte controlado Anton Para Physica (MCR 301) (Graz, Austria) con temperatura controlada de 25 °C, por sistema "Peltier Hood", con una punta de medición cono-plato de 25 mm de diámetro. Las propiedades viscoelásticas de las muestras se determinaron con una deformación del 1%, correspondiente a la región de viscoelasticidad lineal, variando la frecuencia de oscilación entre 0,1 y 100 Hz (McClements- 2005). Se analizó la tangente del ángulo de desfase ($\tan \delta$), un parámetro frecuentemente analizado para caracterizar sistemas. La $\tan \delta$ representa la viscoelasticidad relativa del gel (G''/G') (Aguilera *et al.*1993). La $\tan \delta$ es considerada un indicador de la organización estructural del material. Valores de $\tan \delta \geq 1$ indican un predominio del comportamiento viscoso, mientras que valores de $\tan \delta < 1$ indican predominio del comportamiento elástico, característico de los geles.

El grado de dependencia de G' y G'' con la frecuencia puede ser expresado por la ley de la potencia según las siguientes Ecuaciones 1 y 2.

$$G'(f) = K' f n' \quad (1)$$

$$G''(f) = K'' f n'' \quad (2)$$

Donde, G' es el modulo elástico, G'' es el módulo viscoso y f es la frecuencia de oscilación. Al graficar $\ln G'$ vs $\ln f$ y $\ln G''$ vs $\ln f$, se determinaron las constantes n' , n'' ; K' y K'' , que son las pendientes y las ordenadas al origen respectivamente.

La dependencia del módulo elástico con la frecuencia brinda información sobre el tipo de estructura que presenta el gel. Los valores de n' y n'' aportan información con respecto a las interacciones entre los polímeros que forman el gel. Las pendientes n' y n'' tienden a cero para geles fuertes; conforme disminuye la fuerza del gel, n' y n'' aumenta. Además $K' > K''$ para geles y $K'' > K'$ en el caso de soluciones (Steffe- 1996).

La viscosidad compleja, η^* , está relacionada con la viscosidad de los componentes viscosos y elásticos, η' y η'' , y es expresado por la Ecuación 3.

$$|\eta^*| = \sqrt{(\eta')^2 + (\eta'')^2} \quad (3)$$

La parte real de la viscosidad compleja, η' , se denomina viscosidad dinámica y para un fluido Newtoniano corresponde a la viscosidad de corte. La viscosidad compleja es un indicador de la resistencia total del gel al esfuerzo de corte (Yamul y Lupano-2005).

Evaluación de la sinéresis

La capacidad de retención de agua se evaluó por método gravimétrico (Ecuación 4). Se pesaron las muestras a partir del día de su elaboración, cada 5 días durante 20 días de almacenamiento a 10 °C.

$$\% \text{ sinéresis} = \frac{\text{peso}_{\text{inicial muestra}} - \text{peso}_{\text{final muestra}}}{\text{peso}_{\text{inicial muestra}}} \times 100 \quad (4)$$

Análisis estadístico

Se utilizó el paquete estadístico Graphpad Prism 3.0 para Windows.

Los resultados presentados son el promedio de cuatro mediciones.

Análisis microscópico

Se analizó la microestructura de las muestras que fueron almacenadas por 48 horas a 10 °C, con y sin tinción con yodo (Y) o azul de toluidina (AT), utilizando un microscopio óptico Arcano L 2000 A (Flint -1996).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El barrido de frecuencia de una dispersión provee información acerca de su estructura. Los espectros mecánicos de las muestras de los flanes se muestran en la **Figura 1A, B y C**.

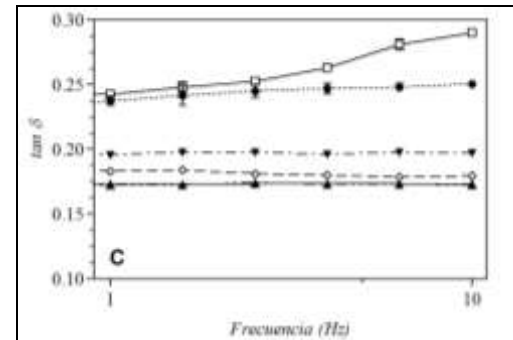
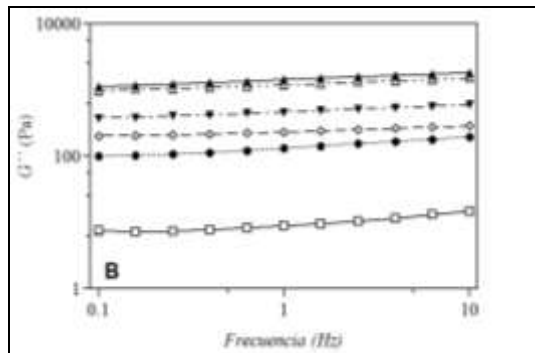
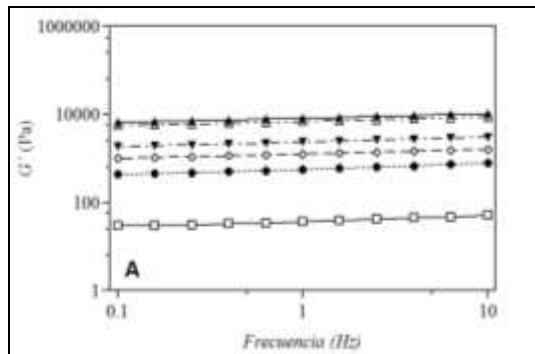


Figura 1: A) Módulo de almacenamiento, G' , en función de la frecuencia; B) Módulo de pérdida, G'' , en función de la frecuencia; y C) $\tan \delta$ en función de la frecuencia, para las muestras de flanes, realizadas con las siguientes proporciones de hidrocoloides: (●) EC- κ C 100:0; (◊) EC- κ C 75:25; (▼) EC- κ C 50:50; (Δ) EC- κ C 25:75; (▲) EC- κ C 0:100; y (□) blanco, sin EC ni κ C. Cada punto es el promedio de cuatro determinaciones. Temperatura: 25°C.

Los resultados mostraron que todas las muestras presentaron un comportamiento tipo gel ($G' > G''$) en todo el rango de medición. La muestra EC- κ C 100:0 presentó mayor dependencia de G' con la frecuencia con un rango de variación de 430-1100 Pa, por lo que resultó el gel más débil. La muestra de EC- κ C 0:100 mostró la menor dependencia de G' (6800-13450 Pa) con la frecuencia, gel fuerte. Las muestras 50:50 y 75:25 presentaron valores de G' intermedios (1860-4000 Pa) y (1000-2060 Pa) respectivamente. Todas las muestras presentaron valores de G' inferiores a los de la muestra EC- κ C 0:100, a diferencia de otros autores, que obtuvieron un incremento de G' al evaluar las mezclas de κ C-galactomananos, (galactomananos con diferentes relaciones manosa-galactosa) (Pinheiro *et al.* 2011).

Todas las muestras presentaron valores de la $\tan \delta$ menores a 1 y prácticamente independientes de la frecuencia de oscilación, revelando un típico comportamiento de gel fuerte. Solo la muestra blanco, sin adición de EC ni de κ C, presentó un valor de $\tan \delta$ dependiente de la frecuencia (**Figura 1 C**), gel más débil.

La mezcla en la proporción EC- κ C 100:0, representada en la Figura 1 C, presentó la mayor dependencia de la $\tan \delta$ con la frecuencia de oscilación comparada con las demás mezclas.

En conclusión, los resultados mostrados en la Figura 1 evidencian un efecto de dilución de la κ C por parte de la EC.

A partir de la **Figura 2** y de las ecuaciones 1 y 2, se obtuvieron los valores de los parámetros n' , n'' , K' y K'' representados en las **Tablas 1 y 2**.

Se pudo determinar que a medida que la concentración de EC aumenta y disminuye κ C, los valores de n' y n'' aumentan, revelando una menor interacción entre los polímeros que conforman el gel (Steffe- 1996).

Los valores de K' y K'' disminuyen con el aumento de la proporción de la EC y esto evidencia la disminución en la fuerza del gel.

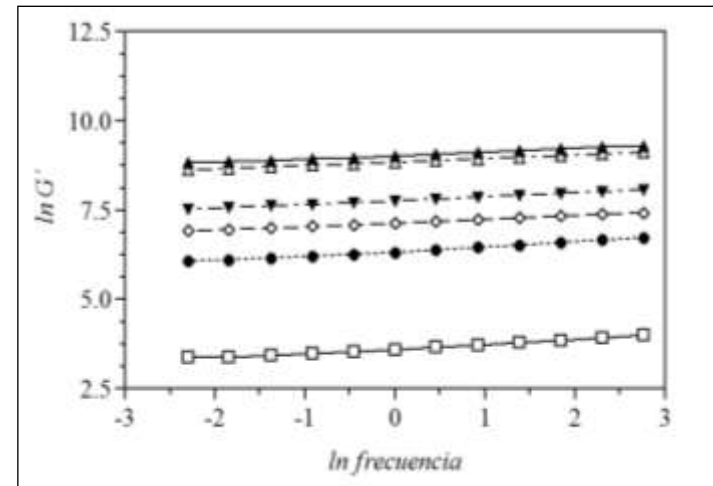


Figura 2: Logaritmo del módulo de almacenamiento, $\ln G'$, en función del logaritmo de la frecuencia, para las muestras de flanes, realizadas con las siguientes proporciones de hidrocoloides: (●) EC- κ C 100:0; (◊) EC- κ C 75:25; (▼) EC- κ C 50:50; (Δ) EC- κ C 25:75; (▲) EC- κ C 0:100; y (□) blanco, sin EC ni κ C. Cada punto es el promedio de cuatro determinaciones. Temperatura: 25°C.

Tabla 1: Parámetros obtenidos a partir de la ley de la potencia de G' para las muestras de flanes realizadas con las diferentes dispersiones EC-κC.

Proporción EC-κC	K' [Pa.s ⁿ]	n' [-]	r^2
0:100	8.366	0.0955	0,9798
25:75	6.904	0.0941	0,9647
50:50	2.357	0.1035	0,9146
75:25	1.261	0.0977	0,9366
100:0	567	0.1331	0,9826
Blanco	37	0.1055	0,8777

Tabla 2: Parámetros obtenidos a partir de la ley de la potencia de G'' para las muestras de flanes realizadas con las diferentes dispersiones EC-κC.

Proporción EC-κC	K'' [Pa.s ⁿ]	n'' [-]	r^2
0:100	1.430	0.1002	0,9815
25:75	1.196	0.0920	0,9577
50:50	466	0.0962	0,9300
75:25	235	0.0848	0,9116
100:0	134	0.1526	0,9934
Blanco	10	0.2094	0,9023

La viscosidad compleja, η^* , (**Figura 3**) reveló la resistencia total del gel al esfuerzo de corte, y decreció linealmente con el aumento de la frecuencia para todas las mezclas evaluadas. Esta tendencia es característica en geles fuertes (Ross-Murphy-1995). Además η^* disminuyó con la reducción de la concentración de κC.

Todas las muestras de flanes presentaron un comportamiento tipo gel más débil que la muestra de flan que solo contenía almidón y κC.

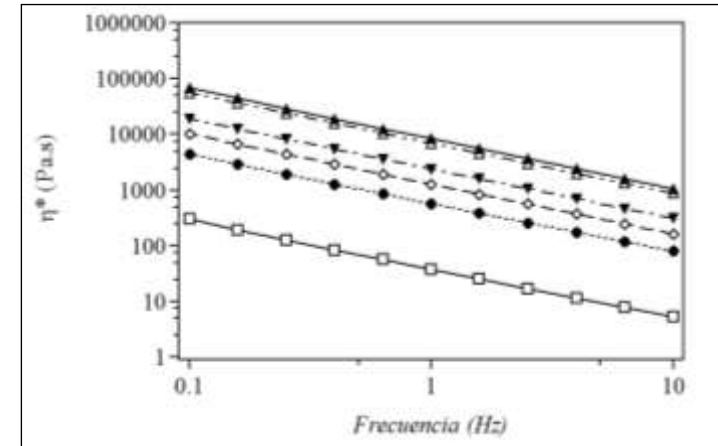


Figura 3: Viscosidad compleja en función de la frecuencia de oscilación para las muestras de flanes, realizadas con las siguientes proporciones de hidrocoloides: (•) EC-κC 100:0; (◊) EC-κC 75:25; (▼) EC-κC 50:50; (Δ) EC-κC 25:75; (▲) EC-κC 0:100; y (□) blanco, sin EC ni κC. Cada punto es el promedio de cuatro determinaciones. Temperatura: 25°C.

A partir de los resultados expuestos en la **Tabla 3**, se determina que el reemplazo de la κC por la EC favorece la retención de agua. Se alcanzan valores nulos de sinéresis con las proporciones 75:25 y 100:0; y valores poco significativos (0,9% a los 30 días de elaboración) para la proporción 50:50 EC-κC. Las proporciones

25:75 y 0:100 presentan alto porcentaje de sinéresis (3,7 y 14,0% respectivamente a los 30 días de elaboración).

Tabla 3: Evaluación de la sinéresis de las muestras de flanes realizadas con las diferentes dispersiones EC-κC a los 5, 15, 20 y 30 días de su preparación.

Proporción EC-κC	% de sinéresis (5 días)	% de sinéresis (15 días)	% de sinéresis (20 días)	% de sinéresis (30 días)
0:100	5,6±0,2	9,9±0,3	10,9±0,5	14,0±0,5
25:75	1,9±0,2	2,9±0,5	3,7±0,2	3,7±0,2
50:50	0,0±0,1	0,5±0,5	0,9±0,5	0,9±0,5
75:25	0,0±0,2	0,0±0,1	0,0±0,1	0,0±0,1
100:0	0,0±0,1	0,0±0,1	0,0±0,1	0,0±0,1
Blanco	0,0±0,1	0,0±0,1	0,0±0,1	0,0±0,1

El análisis de la microestructura reveló la presencia de una fase acuosa continua donde se encontraron las gomas, los almidones, enteros e hidratados en su mayoría, y la fase oleosa discontinua homogéneamente dispersa en la fase acuosa.

Las partículas de EC hidratadas en presencia de AT se tiñen de color rosa con contenidos púrpura oscuro, según la cantidad de moléculas de AT fijadas. La κC se tiñe de color magenta con formación de pliegues. Además con el Yodo la EC se tiñe de color amarillo y la κC presenta una matriz sin teñir con manchas marrón rojizo (Flint- 1996).

Se puede observar en las muestras, con la mezcla de las gomas (EC y κC), que cuando se realiza la tinción con AT se presentan tantas células rosa con contenidos purpura oscuros que indican la

presencia de EC, esto pone de manifiesto la asociación entre las gomas EC y κC dando una coloración magenta más uniforme. Por otro lado puede observarse que en las muestras que no contienen EC (EC-κC, 0:100) el yodo tiñe a todos los gránulos de almidón de color azul intenso, mientras que con la presencia de EC solo se tiñen algunos gránulos de este color y aparecen gránulos teñidos de color pardo amarillento, evidenciando la asociación entre las moléculas de galactomananos con los gránulos de almidón.

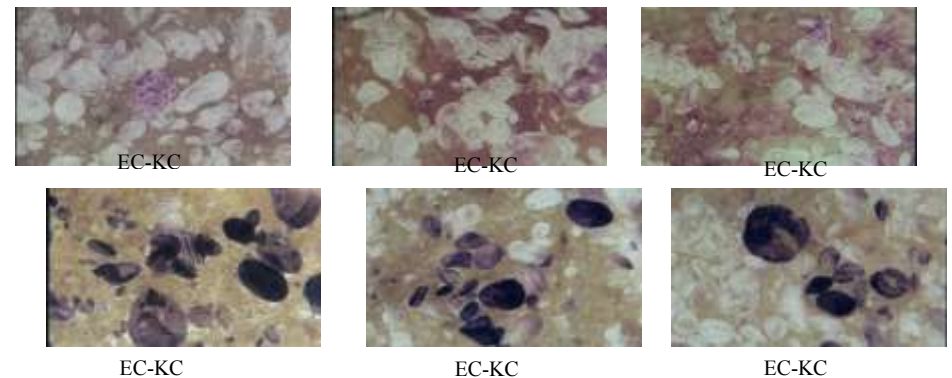


Figura 4: Microscopía de las muestras EC-κC en las proporciones 100:00, 50:50 y 00:100 con Azul de toluidina o yodo. Aumento 40X.

CONCLUSIONES

Se evidencia una importante mejora en la disminución de la sinéresis en flanes sin huevo con las mezclas de EC y κC. Los cambios en el comportamiento reológico pueden ser explicados en términos de la influencia de la disminución de la concentración de κC a medida que aumenta la proporción de EC en las mezclas. No se observa sinergismo reológico entre la κC y la EC.

Debido a la situación de compromiso entre fuerza de gel y sinéresis, se sugiere emplear la proporción EC-κC 50:50 o 75:25 al 0,4% (p/p).

Es factible minimizar la sinéresis de flanes sin huevo mediante la incorporación de goma espina corona en las condiciones ensayadas, promoviendo la producción nacional de hidrocoloides (EC).

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilera JM, Xiong YL, Kinsella JE 1993. Viscoelastic properties of mixed dairy gels. *Food Research International* 26:11-17.
- Cerezo A. 1965. The Constitution of a Galactomannan from the Seed of *Gleditsia amorphoides*, *J. Org. Chem.* 30:924-927.
- Dustan DE, Chen Y, Liao ML, Salvatore R, Boger DV, Prica M. 2001. Structure and rheology of κ -carrageenan/locous bean gum gels. *Food Hydrocolloids* 15:475-484.
- Fennema OR. 2000. *Química de los alimentos*. Ed. Acribia. España. pag.
- Ferrero C, Zaritzky NE. 2000. Effect of freezing rate and frozen storage on starch-sucrose-hydrocolloid systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80:2149-2158.
- Flint O. 1996. *Microscopía de los alimentos*. Ed. Acribia.
- Funami T, Kataokaa Y, Omotoa T, Gotoa Y, Asai I, Nishinar K. 2005. Effects of non-ionic polysaccharides on the gelatinization and retrogradation behavior of wheat starch. *Food Hydrocolloids* 19:1-13.
- Imeson AP. 2009. Carrageenan. *Handbook of Hydrocolloids*. Ed. Phillips GO, Williams PA. 2nd edit. Woodhead Publishing, Cambridge, UK. Praznik W. pag. 92.
- Lai VM, Huangb AL, Lib Y. 1999. Rheological properties and phase transition of red algal. *Food Hydrocolloids* 13:409-418.
- McClements DJ. 2005. *Food emulsions: Principles, practices, and techniques*, 2nd edit. Boca Raton: CRC Press.
- McClements, DJ. 2005. *Food Emulsions. Principles, Practices, and Techniques*. Second Edition. CRC PRESS. Boca Raton London New York Washington, D.C.

- Palma R M, Prause J, Fontanive AV, Jimenez MP. 1998. Litter fall and litter decomposition in a forest of the Parque Chaqueño Argentino. *Forest Ecology and Management* 27: 205-210.
- polysaccharide–starch composites. *Food Hydrocolloids* 13: 409–418.
- Srivastava M, Kapoor VP. 2005. Seed Galactomannans: An Overview. *Chemistry & Biodiversity* 2: 295-317.
- Ross-Murphy SB. 1995. Rheological characterisation of gels. *Journal of Texture Studies* 26: 391-400.
- Song KW, Kim Y, Chang GS. 2006. Rheology of concentrated xanthan gum solutions: Steady shear flow behavior 7: 129-138.
- Steffe JF. 1996. "Rheological methods in food process engineering" Segunda edición, Freeman Press USA.
- Yamul DK, Lupano CE. 2005. Whey protein concentrate gels with honey and wheat flour. *Food Research International* 38: 511-522.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue financiado por el Departamento de Tecnología de la Universidad Nacional de Luján.

EFFECTO DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA EN LAS PROPIEDADES DE HIDRATACIÓN DE FIBRAS AISLADAS DE RESIDUOS DEL PROCESAMIENTO DE ZANAHORIA (*DAUCUS CAROTA* L.)

Idrovo Encalada A.M.^{1,2}, Basanta M.F.^{1,3}, Fissore E.^{1,3}, Pérez C.D.^{3,4}, Rojas A.M.^{1,3}

1: Departamento de Industrias; Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

2: Becaria de postgrado del Gobierno de la República de Ecuador.

3: CONICET.

4: Instituto de Tecnología de Alimentos (ITA), INTA-Castelar, Argentina.

arojas@di.fcen.uba.ar

Resumen: Los residuos de la industrialización de vegetales son fuente valiosa de biopolímeros (fibra soluble e insoluble) y de compuestos bioactivos (antioxidantes), útiles para el desarrollo de materiales. En este trabajo se aprovechó la fibra remanente de la extracción acuosa de la zanahoria, obteniéndose polvos con tamaños medios de 53, 105 y 210 micrones, útiles como material de refuerzo en películas comestibles. Se determinaron las propiedades de hidratación así como la cinética de absorción de agua en función del tamaño de partícula. Se observó un cambio de color significativo. El volumen específico varió entre 7,00 y 8,00 cm³/g. Las capacidades de hinchamiento, de atrapamiento y de retención de agua aumentaron cuando el tamaño de partícula aumentó de 53 a 105 μm, no mostrando diferencia entre los

valores obtenidos para 105 y 210 μm. Las cinéticas de absorción espontánea de agua (agua absorbida q vs. tiempo, t) ajustaron según Ritger y Peppas ($q = k \cdot t^n$). La constante de velocidad k aumentó con el tamaño de partícula y el índice de hinchamiento, n , fue mayor para 53 μm. Este estudio demuestra que el tamaño de partícula de las fibras cargadas puede condicionar el desempeño de las películas donde sean aplicadas.

Palabras clave: zanahoria, biopolímeros de pared celular, fibra, tamaño de partícula, propiedades de hidratación.

Abstract: An important part of vegetables are wasted during industrialization, even though they are valuable sources of biopolymers (soluble and insoluble fiber) and of bioactive compounds (antioxidants) useful for material development. In this work, it was made use of the fiber obtained after the aqueous extraction of carrots, and powders with mean particle sizes of 53, 105 and 210 micrometers were obtained, which can be applied to the reinforcement of edible films. Hydration properties and kinetics of spontaneous water absorption were determined as a function of the particle size. A significant color change was observed. The specific volume was 7.00-8.00 cm³/g. Swelling, water holding and water retention capacities increased when the particle size rose from 53 to 105 μm, but showed no difference between the hydration values determined for 105 and 210 μm. The kinetics of spontaneous water absorption (absorbed water q vs. time, t) fitted according to Ritger and Peppas ($q = k \cdot t^n$). The rate constant of absorption (k) increased with the particle size and the swelling index (n) was higher for the 53-μm fiber powder. This study demonstrated that the particle size of

the fibers loaded can influence the performance of the edible films.

Keywords: carrot, cell wall biopolymers, fiber, particle size, hydration properties.

INTRODUCCIÓN

Dos actividades humanas fuertemente conectadas con la química ambiental en general y con la polución en particular son la producción de energía y la disposición de los residuos. Esto último constituye un problema creciente, especialmente en lo que respecta al uso de películas poliméricas no biodegradables para el envasado y para la disposición misma de los residuos (Atlas Ambiental Buenos Aires 2010, Goyal 2006).

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) ha estimado que, en 2009, el 32% (en peso) de todos los alimentos producidos en el mundo fueron perdidos o bien descartados como residuo. Esencialmente, una de cada cuatro calorías de los alimentos destinados a humanos no es consumida. Estas pérdidas y descartes (**Figura 1**) tienen impactos, tanto económicos como ambientales, negativos. Económicamente, ellos representan una inversión desperdiciada que reduce los ingresos de los agricultores e incrementa el gasto de los consumidores de alimentos. Desde el punto de vista ambiental, la pérdida de alimentos así como los residuos generados en la cosecha y en el procesamiento infligen una serie de impactos que incluyen la producción de emisiones gaseosas innecesarias que contribuyen al efecto invernadero, así como al uso del agua y de la tierra de cultivo en forma ineficiente, lo cual puede conducir a la disminución de los ecosistemas naturales y los servicios que ellos proveen (Lipinski *et al* 2013). Las pérdidas de alimentos resultan de manejos agronómicos ineficientes o de la utilización de tecnologías limitadas en cuanto al almacenamiento de las cosechas, la infraestructura disponible, el

envasado o marketing. Se considera como "residuos" a alimentos que son de buena calidad, aptos para el consumo humano, pero que no llegan a ser así utilizados porque son descartados, ya sea antes o después de que estos alimentos se deterioren, debido ello a la negligencia o a una decisión consciente de descartarlos (Lipinski *et al* 2013).

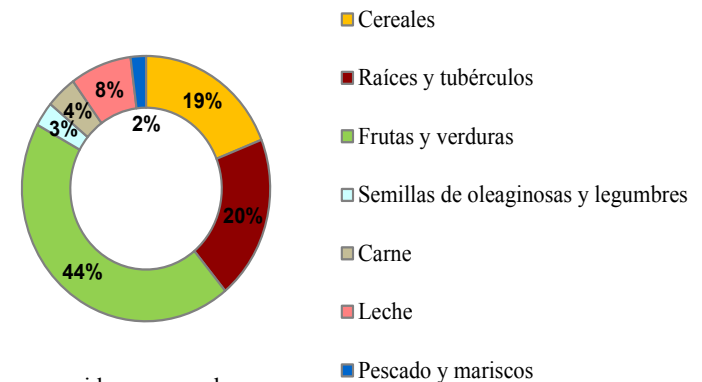


Fig. 1 Pérdidas y residuos generados

Figura 1: Pérdidas y residuos generados (% en peso)

Entre otros se incluyen los remanentes del procesamiento industrial de vegetales y los de la cosecha (**Figura 1**). En esta última, en general se descartan frutos, hortalizas y verduras por no tener el tamaño adecuado exigido por estándares, o bien por presentar alteraciones en el color, irregularidades en forma y tamaño, defectos superficiales de menor o mayor grado, pérdida de turgencia (Laufenberg *et al* 2003, Mattheis y Fellman 2004,

Waldron 2009). El uso eficiente de subproductos de la agricultura y de la industrialización de frutas, hortalizas y verduras constituye actualmente un desafío que implica tanto su aprovechamiento económico como la necesidad simultánea de contribuir a la disminución del volumen de residuos que se producen, a fin de reducir la polución ambiental (Creedon *et al* 2010). Así, los proyectos encarados por las industrias, las urbanizaciones, etc, deben ser sustentables (The World Bank 2014). Los procesos deben aumentar su eficiencia para disminuir la emisión de efluentes así como los residuos generados, incluyendo vegetales. Los principales residuos de la industrialización de vegetales (35% de las manzanas, 74% de las naranjas, 42% de las peras, 8% de los tomates, entre otros) están compuestos por las pelus (exocarpios) y restos del mesocarpio comestible y del endocarpio no comestible (Kumar y Manimegalai 2004).

Residuos industriales como, por ejemplo, los provenientes del procesamiento de vegetales, se destinan fundamentalmente a la alimentación de animales. En segunda instancia, son aplicados a la obtención de energía. Sin embargo, un alto porcentaje se descarta, aún siendo fuente valiosa de biopolímeros (fibra soluble e insoluble) con actividad fisiológica y con funcionalidad, por la cual pueden aplicarse no sólo como agentes de carga, sino también como espesantes y/o gelificantes útiles en la industria alimentaria (de Escalada Pla *et al* 2013, Fissore *et al* 2013), farmacéutica (Cosenza *et al* 2013), cosmética y en la explotación petrolífera (Iglauer *et al* 2011, Cosenza *et al* 2013), así como al desarrollo de materiales (John y Thomas 2008). Asimismo, son fuente de antioxidantes naturales (Yanishlieva-Maslarova 2000) de aplicación en alimentos, farmacia y cosmética. La producción de polvos con alto contenido de fibra dietaria a partir de los subproductos de la industria de cereales y del procesamiento de

vegetales contribuye a disminuir la polución y a recuperar biomateriales y nutrientes, agregando valor a la materia prima (Waldron 2009, Policy for Labeling 2012). Aprovechando sus características funcionales, las fibras podrían entonces utilizarse para constituir matrices poliméricas per se antioxidantes así como para cargar otros antioxidantes naturales.

El objetivo del presente trabajo fue el aprovechamiento del residuo proveniente de la industrialización de la raíz de la zanahoria (*Daucus carota* L.) para la obtención de polvos enriquecidos en polímeros de la pared celular que puedan ser aplicados como material de refuerzo de películas comestibles. Para ello, se hace primero necesario caracterizar los polvos, determinando el volumen específico (SV), las propiedades de hidratación [capacidad de hinchamiento (SC), de atrapamiento (WHC) y de retención de agua (WRC)], así como la cinética de absorción espontánea de agua (constante cinética k , índice de hinchamiento n) de los polvos en función del tamaño de partícula, ya que éste condicionaría su hidratación y, por lo tanto, el desempeño final de las películas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Extracción de la fibra

Se utilizaron residuos de la raíz de zanahoria, incluido el tejido central (cambium). Fueron lavados, luego molidos a alta cizalla (Ultra Turrax, Alemania) mientras eran extraídos con agua (agua:vegetal=3:1, en peso) en caliente (90°C) durante 20 min. Se repitió la operación un total de tres veces, en cada caso descartando el sobrenadante. Se realizaron dos lavados posteriores con agua a temperatura ambiente, filtrando. El

residuo obtenido fue deshidratado por liofilización, previa congelación y, posteriormente, reducido a polvo más fino en un molinillo (Decalab, Argentina). Se realizó una clasificación por tamaño mediante tamizado durante 40 min por un tren de seis tamices y un fondo ciego (norma ASTM). Se decidió trabajar con las fracciones de menor tamaño de partícula en vistas de su aplicación para el refuerzo de películas comestibles, para las cuales se había además obtenido el mayor rendimiento (mayor al 20% para cada una). Ellas correspondieron a polvos de tamaño medio de 53, 105 y 210 micrones. Sobre muestras de cada granulometría, se realizaron luego los ensayos que a continuación se indican.

Propiedades de hidratación

Las mismas fueron determinadas de acuerdo a Basanta *et al.* (2014). Se pesaron 0,0200 g de muestra en un tubo graduado, calibrado, de fondo cónico. Luego se agregaron 2250 microlitros de agua y se lo dejó hidratar durante 18 horas a 25°C. Al cabo de ello, se midió el volumen total alcanzado por la fibra hidratada dentro del tubo graduado, para así calcular la **capacidad de hinchamiento (SC)** de la muestra (ecuación 1) (Robertson *et al.* 2000, Rhagavendra *et al.* 2004). Luego fue filtrada a través de papel de fibra de vidrio (Whatman GF/C) previamente pesado, dejando escurrir el residuo a presión atmosférica, y registrando el peso del residuo hidratado, el cual fue luego liofilizado para obtener, finalmente, el peso del residuo seco y, así, calcular la **capacidad de atrapamiento de agua (WHC)** (ecuación 2). Para determinar la **capacidad de retención de agua (WRC)**, luego de las 18 horas de hidratación a 25°C, cada muestra fue centrifugada durante 30 min a 2000 × g. Se separó el

sobrenadante y se transfirió el residuo a un papel de filtro de fibra de vidrio (Whatman GF/C) previamente pesado para escurrir el líquido restante. Se pesó la fibra húmeda retenida (R+W₂), se la liofilizó y luego se pesó el residuo seco R (ecuación 3) (Rhagavendra *et al.* 2004).

Cada uno de los ensayos descriptos fue realizado por triplicado para cada tamaño de partícula.

SC (mL agua/g fibra) = Volumen ocupado por la muestra hidratada / peso de la muestra original (1)

WHC (g agua/g fibra) = (Peso del residuo hidratado - peso del residuo seco) / peso del residuo seco (2)

WRC (g de agua/g residuo seco; fibra) = W₂/R (3)

Cinética de absorción espontánea de agua: se determinó midiendo la absorción espontánea de agua a través del hinchamiento, por capilaridad, de una cantidad exactamente pesada (≈ 0,0400 g) de la muestra, utilizando un aparato modificado de Baumann (Robertson *et al.* 2000). El volumen de agua bidestilada tomada por la muestra se midió a diferentes intervalos de tiempo durante cuatro horas, sobre una pipeta graduada de vidrio. Los ensayos cinéticos se llevaron a cabo por triplicado para cada residuo. Los datos se ajustaron utilizando la siguiente ecuación (Ritger y Peppas 1987):

$$q = k \cdot t^n \quad (4)$$

donde k (mL de agua·s⁻ⁿ·g_{fibra}⁻¹) es la constante de velocidad de absorción de agua, n es el índice de hinchamiento y q corresponde al agua absorbida (mL agua/g fibra) a tiempo t (s).

Volumen específico (SV): se midió el volumen ocupado por 0,0500 g de muestra en una probeta graduada y calibrada de 5,00 ml. La densidad aparente se calcula como el cociente entre el peso (g) de la muestra y el volumen (cm³) ocupado por la misma. El SV se calcula como la inversa de la densidad aparente. Este procedimiento fue realizado por triplicado para cada tamaño de partícula.

Color

Las coordenadas de color en el espacio CIE-*Lab* (la luminosidad del color L^* entre 0 y 100%, su posición entre el rojo y verde, a^* , así como entre el amarillo y el azul, b^*) fueron medidas para cada polvo de diferente tamaño de partícula, contenido en celdas de vidrio transparentes e incoloras de 20 mm de diámetro, de bordes negros, mediante un colorímetro (Minolta CM-508D, Japón), usando una apertura de 15 mm, iluminante D65 y 2° de ángulo de observación, siendo el valor estándar considerado el correspondiente al fondo blanco (Basanta *et al.* 2014). Esta determinación fue realizada seis veces para cada tamaño de partícula.

Análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados se realizó a través de un análisis de la varianza-ANOVA (α : 0,05) seguido de

comparaciones múltiples evaluadas por lo menos a través de la diferencia de cuadrados, con el objetivo de evaluar diferencias significativas, utilizando el programa Statgraphic (Statgraphic Plus for Windows, version 5.0, 2001, Manugistic Inc., Rockville, MD, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los polvos aislados de los residuos de la raíz de la zanahoria (92,8% humedad) están enriquecidos en los polímeros de pared celular. En la **Figura 1** se pueden ver los resultados de las mediciones de las coordenadas del color presentados por los polvos. Puede observarse que la luminosidad (L^*) disminuyó significativamente ($p < 0,05$) al aumentar el tamaño de partícula. Contrariamente, el valor de la coordenada a^* aumentó significativamente ($p < 0,05$) con el tamaño de partícula, mientras que el de la coordenada b^* lo hizo al aumentar el tamaño de 53 a 105 micrones, pero sin observarse variación significativa para este parámetro, entre 105 y 210 micrones. Además, tanto a^* como b^* son positivas, por lo que sus valores están en la zona del rojo-amarillo, respectivamente.

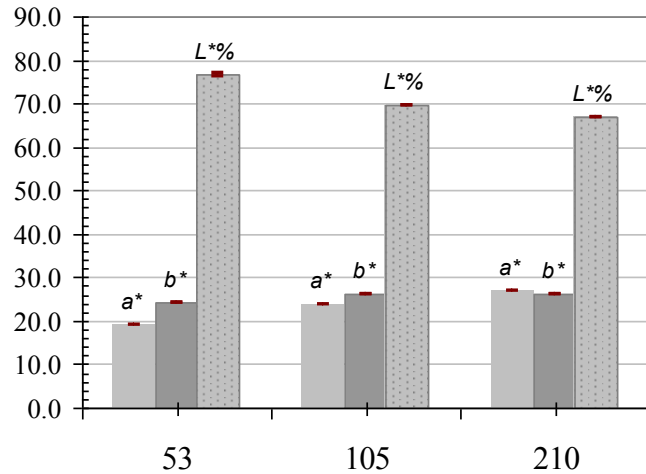


Figura 1: Valores de las coordenadas de color, representadas en función del tamaño medio de partícula (micrones) de los polvos aislados de los residuos de la raíz de la zanahoria, incluyendo el cambiun. Se reportan además las barras de error correspondiente al desvío estándar ($n=3$).

El volumen específico varió entre 7,98 y 6,9 cm^3/g (**Figura 2**), valores que resultan ser sensiblemente mayores que los reportados para fibras aisladas de los residuos de cereza (1,73–3 cm^3/g), de membrillo (1,79–2,2 cm^3/g) y de calabaza criolla (6,6 cm^3/g), las que presentaron mayor tamaño medio de partícula (420 micrones) y deshidratadas también por liofilización (de Escalada Pla *et al.* 2007, de Escalada Pla *et al.* 2010, Basanta *et al.* 2014). El volumen específico disminuyó con el tamaño medio de

partícula analizado, siendo significativamente ($p<0,01$) mayor para la fibra de 53 micrones (**Figura 2**)

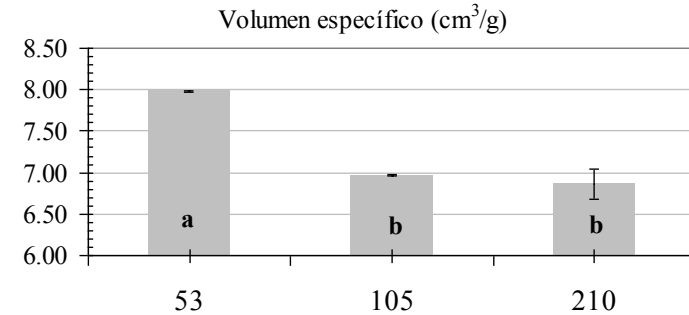


Figura 2: Volumen específico de los polvos aislados de los residuos de la raíz de la zanahoria, representados en función del tamaño medio de partícula (micrones). Se reportan además las barras de error correspondientes al desvío estándar ($n=3$): letras minúsculas diferentes sobre las barras gráficas indican que existe diferencia significativa ($p<0,05$).

En la **Figura 3** se muestran los resultados obtenidos para las propiedades de hidratación de los polvos, en función del tamaño medio de partícula. Para este caso, se determinó que las mismas aumentaron con el tamaño medio de partícula. Así, la capacidad de hinchamiento (SC) aumentó significativamente ($p<0,05$) para tamaños de partícula entre 53 y 210 micrones, mientras que las capacidades de atrapamiento (WHC) y de retención (WRC) de agua aumentaron significativamente ($p<0,05$) sólo al pasar de 53 a 105 micrones, no habiendo diferencias para ambas propiedades entre 105 y 210 micrones (**Figura 3**).

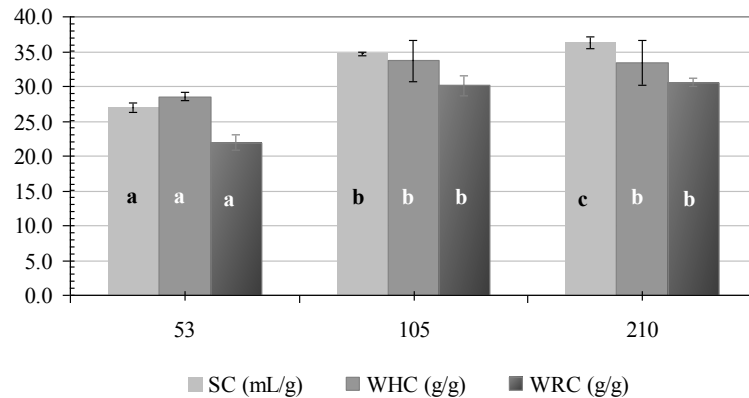


Figura 3. Propiedades de hidratación de los polvos aislados de los residuos de la raíz de la zanahoria, representados en función del tamaño medio de partícula (micrones): capacidad de hinchamiento (SC), capacidad de atrapamiento de agua (WHC) y capacidad de retención de agua (WRC). Se incluyen las barras de error correspondientes al desvío estándar ($n=3$): para cada propiedad de hidratación, letras minúsculas diferentes indican que existe diferencia significativa ($p < 0,05$).

Los valores de SC obtenidos duplicaron los que fueron previamente determinados para fibras aisladas de los residuos de cereza (Basanta *et al.* 2014) y de membrillo (de Escalada Pla *et al.* 2010), los cuales presentaban mayor tamaño medio de partícula (420 micrones) y menor SV ($1,73-2,2 \text{ cm}^3/\text{g}$). Sin embargo, los valores de SC de las fibras de zanahoria fueron semejantes y aún mayores que los obtenidos de las fibras aisladas de las cáscaras y

del mesocarpio del zapallo "calabacita criolla" ($\approx 23,0 \text{ mL/g}$) aunque menores a los obtenidos de las fibras de la pared celular (AIR) del mesocarpio de dicho zapallo ($41,8 \text{ mL agua/g de fibra}$) (de Escalada Pla *et al.* 2007). Los valores de WHC y de WRC fueron casi el triple de los obtenidos para las fibras aisladas de los residuos del procesamiento del membrillo (de Escalada Pla *et al.* 2010) y de la cosecha de la cereza (Basanta *et al.* 2014), pero semejantes a los determinados en fibras aisladas de la cáscara y del mesocarpio del zapallo "calabacita criolla" ($24 \text{ a } 44 \text{ g agua/g de fibra}$) (de Escalada Pla *et al.* 2007).

En general, se esperaría que la reducción del tamaño de partícula implicara una mayor área expuesta a la absorción de agua. Por el contrario, las propiedades de hidratación aumentaron con el tamaño de partícula, seguramente debido a su composición química y resistencia de la fibra a la molienda,

En la **Tabla 1** se informan los parámetros obtenidos como consecuencia del ajuste de los datos experimentales a la ecuación de Ritger y Peppas (1987) (ecuación 4). Esta ecuación es utilizada para ajustar cinéticas de hinchamiento de matrices poliméricas del tipo hidrogeles, durante ensayos de liberación de drogas. El índice de hinchamiento (n) resultó ser ligeramente mayor para las partículas de menor tamaño (53 micrones), mientras que la constante de velocidad de hinchamiento o de absorción de agua (k) aumentó significativamente cuando el tamaño medio de partícula lo hizo desde 53 a 105 micrones, no existiendo diferencia significativa entre los valores de k correspondientes a 105 y 210 micrones. Para muestras en forma de disco (placa plana), valores de $n = 0,5$ implica un mecanismo Fickiano para la difusión del agua en la matriz polimérica, conduciendo al hinchamiento de la misma en forma no dependiente de la relajación de las cadenas poliméricas, mientras

que valores de n entre 0,5 y 1 corresponde a un mecanismo de difusión "no Fickiano" (Jabbary y Nozari, 2000). Las fibras o polvos no constituirían hidrogeles al absorber agua en forma espontánea, a lo cual se debería que los valores de n (índice de hinchamiento) obtenidos sean menores a 0,5, cercanos a 0 (**Tabla 1**). Las k resultaron mayores que aquellas obtenidas para las fibras aisladas de las cerezas de descarte de la cosecha (Basanta *et al.* 2014).

Tabla 1: Parámetros* resultantes del ajuste a la ecuación de Ritger y Peppas (1987), de la cinética de absorción espontánea de agua de los polvos de zanahoria.

	Tamaño medio de partícula (micrones)		
	53	105	210
k (mL·g ⁻¹ ·s ⁻ⁿ)	5,4 ± 0,4 ^A	8,1 ± 0,6 ^B	8,8 ± 0,6 ^B
n	0,19 ± 0,01 ^A	0,16 ± 0,01 ^A	0,15 ± 0,01 ^A
R ²	0,938	0,919	0,907

***Se informa la media y el desvío estándar (n=3). Letras mayúsculas diferentes como supraíndice en una misma fila indica que existe diferencia significativa ($p < 0,05$).**

CONCLUSIÓN

De los resultados obtenidos en el presente trabajo se puede concluir que el tamaño medio de partícula condiciona las propiedades de hidratación del polvo obtenido de los residuos de la industrialización de la raíz de zanahoria, incluyendo al cambium. Esto se observó entre 53 y 210 micrones. Las partículas de 53 micrones parecen ser menos hidrofílicas que las de mayor tamaño, contrariamente a lo que se esperaría al tener mayor área. En consecuencia, podría esperarse un desempeño diferente de las películas comestibles donde estas partículas sean aplicadas como material de refuerzo.

BIBLIOGRAFÍA

- Atlas Ambiental Buenos Aires, 2010. Residuos, at: http://www.atlasdebuenosaires.gov.ar/aaba/index.php?Itemid=73&id=194&lang=es&option=com_content&task=view
- Basanta MF, de Escalada Pla MF, Raffo MD, Stortz CA y Rojas AM. 2014. Cherry fibers isolated from harvest residues as valuable dietary fiber and functional food ingredients. *Journal of Food Engineering*, 126: 149-155.
- Cosenza VA, Navarro DA, Fissore EN, Rojas AM y Stortz CA. 2013. Chemical and rheological characterization of the carrageenans from *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamoroux. *Carbohydrate Polymers*, 102: 780-789.
- Creedon M, Cunningham D y Hogan J. 2010. *Less Food Wastes More Profit*. ISBN 978-1-906953-03-4. Available at: <http://www.foodwaste.ie/web-images/Food-Waste-Prevention-Guide.pdf>
- de Escalada Pla MF, Ponce NMA, Stortz CA, Rojas AM y Gerschenson LN. 2007. Composition and functional properties of enriched fibre products obtained from pumpkin (*Cucurbita moschata*, Duchesne ex Poiret). *LWT*, 40: 1176-1185.
- de Escalada Pla MF, Rojas AM y Gerschenson LN. 2013. Effect of butternut (*Cucurbita moschata* Duchesne ex Poiret) fibres on bread-making, quality and staling. *Food and Bioprocess Technology*, 6: 828-838.
- de Escalada Pla MF, Uribe M, Fissore EN, Gerschenson LN y Rojas AM. 2010. Influence of the isolation procedure on the characteristics of fiber-rich products obtained from quince wastes. *Journal of Food Engineering*, 96(2): 239-248.

- Fissore EN, Rojas AM, Gerschenson LN y Williams PA. 2013. Butternut and beetroot pectins: characterization and functional properties. *Food Hydrocolloids*, 31: 172-182.
- Goyal SK. 2006. Potential in agribusiness-Fruit and vegetable processing industry in India. *Journal of International Farm Management*, 3(2): 1-15.
- Iglauer S, Wu Y, Shuler P, Tang Y y Goddard III WA. 2011. Dilute iota- and kappa-Carrageenan solutions with high viscosities in high salinity brines. *Journal of Petroleum Sci. Eng.*, 75: 304-311.
- Jabbari E y Nozari S. 2000. Swelling behavior of acrylic acid hydrogels prepared by γ -radiation crosslinking of polyacrylic acid in aqueous solution. *European Polymer Journal*, 36: 2685-2692.
- John MJ y Thomas S. 2008. Biofibres and biocomposites. *Carbohydrate Polymers*, 71: 343-364.
- Kumar RS y Manimegalai G. 2004. Food and Vegetable Processing Industries and Environment. A. Kumar editor, En: *Industrial Pollution & Management*. Publicado por S.B. Nangia para APH Publishing Corporation, New Delhi, India, pp. 108-111.
- Laufenberg G, Kunz B y Nystroem M. 2003. Transformation of vegetable waste into value added products: (A) the upgrading concept, (B) practical implementations. *Bioresources Technology*, 87: 167-198.
- Lipinski B, Hanson C, Lomax J, Kitinoja L, Waite R y Searchinger T. 2013. Reducing food loss and wastes. World Resources Institute. Working paper, UNEP, available at: http://www.unep.org/pdf/WRI-reducing_food_loss_and_waste.pdf
- Mattheis J y Fellman J. 2004. Cherry (Sweet). In K. C. Gross, C. Y. Wang, & M. Saltveit editores, *The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks*. Beltsville, USA: USDA, ARS. Agriculture Handbook Number 66.
- Policy for Labeling and Advertising of Dietary Fibre-Containing Food Products, 2012. Bureau of Nutritional Sciences, Food Directorate, Health Products and Food Branch, Canada. Available @: http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/alt_formats/pdf/legislation/pol/fibre-label-etiquetage-eng.pdf
- Raghavendra SN, Rastogi NK, Raghavarao KSMS y Tharanathan RN. 2004. Dietary fiber from coconut residue: effects of different treatments and particle size on the hydration properties. *Eur. Food Res. Technol.*, 218: 563-567.
- Ritger PL y Peppas NA. 1987. A simple equation for description of solute release. I. Fickian and non-Fickian release from nonswellable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs. *Journal of Controlled Release*, 5: 23-36.
- Robertson JA, de Monredon FD, Dysseleer P, Guillon F, Amadò R y Thibault JF. 2000. Hydration properties of dietary fibre and resistant starch: a European collaborative study. *LWT*, 33: 72-79.
- The World Bank. 2014. Available at: <http://www.worldbank.org/en/topic/sustainabledevelopment>
- Waldron KW. 2009. *Handbook of Waste Management and Co-Product Recovery in Food Processing*. Volumen 2. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, UK.
- Yanishlieva-Maslarova NV. 2000. Sources of natural antioxidants: vegetables, fruits, herbs, spices and teas. En: *Antioxidants in Food*, J. Pokorny, N. Yanishlieva y M. Gordon editores. CRC Press, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England. Cap. 10, pp. 210-249.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue financiado por la Universidad de Buenos Aires, por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de Argentina (CONICET) y por la Agencia Nacional de

Promoción Científica y Tecnológica de Argentina (ANPCyT). Se agradece al Gobierno de la República de Ecuador por la beca de postgrado de la Ing. Idrovo Encalada.

ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES EMULSIFICANTES DE FRACCIONES PROTEICAS DE CHÍA (*SALVIA HISPANICA* L.)

**Julio L.M.¹; Segura Campos M.R.²; Betancur Ancona D.²,
Nolasco S.M.³ y Tomás M.C.¹**

1: Facultad de Ciencias Exactas (FCE) Universidad Nacional de La Plata (UNLP) – CONICET, Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA) – (1900) La Plata, Buenos Aires, Argentina

2: Facultad de Ingeniería – Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Yucatán, México

3: Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería Química (TECSE), Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA), Olavarría, Buenos Aires, Argentina
snolasco@fio.unicen.edu.ar

Resumen: Las propiedades emulsificantes de una fracción rica en proteínas (FRP) proveniente de harina desgrasada de chía (*Salvia hispanica* L.) y las especies proteicas globulinas (Glo), albúminas (A), glutelinas (Glu) y prolaminas (P) fueron evaluadas bajo diferentes tratamientos y condiciones del entorno químico. Con este fin, se prepararon emulsiones O/W (25:75 p/p) con aceite de girasol como fase dispersa y distintas concentraciones de cada fracción proteica (0,02-0,06% p/v), con o sin la aplicación de tratamiento térmico (100°C, 15 min) y a diferentes pH (3-9) conformando la fase continua, empleando un Ultra-Turrax (20.000 rpm, 1min). Las emulsiones O/W resultantes registraron una distribución de tamaño de partículas monomodal, diámetros

D [4,3] en el orden de 30-150 µm y desestabilización por cremado a un corto tiempo de su preparación. Las emulsiones con Glo presentaron una mayor estabilidad global. La variación de la concentración de agente emulsificante empleado no tuvo una incidencia significativa en la estabilidad de las emulsiones. El tratamiento de desnaturalización mejoró la estabilidad de las emulsiones formuladas con FRP y Glo, no así el resto de las fracciones estudiadas. El efecto de pH sobre la estabilidad de las emulsiones fue coherente con la solubilidad de las distintas fracciones proteicas en diferentes medios.

Palabras claves: chía, fracción rica en proteínas, fracciones proteicas, emulsiones O/W, cinéticas de desestabilización

Abstract: The emulsifying properties of a protein-rich fraction (PRF) extracted from defatted chia flour (*Salvia hispanica* L.) and the globulin (Glo), albumin (A), glutelin (Glu) and prolamins (P) protein species, were evaluated under different treatments and chemical environment conditions. For this purpose, O/W emulsions (25:75 wt/v) with sunflower oil as the disperse phase and different concentrations of each protein fraction (0.02-0.06% wt/v), with and without the application of a heat treatment (100°C, 15 min) at different pH (3-9), constituted the continuous phase, were prepared with an Ultra-Turrax (20.000 rpm, 1min). O/W emulsions recorded a monomodal particle size distribution, diameters D [4,3] ranging 30-150 µm and destabilization by creaming after a short time of their preparation. Emulsions with Glo had the highest global stability. The variation of the emulsifying agent concentration used had no significant impact on the stability of emulsions. It was observed that the denaturation treatment improved the stability of emulsions

made with FRP and Glo, but this did not occur with the rest of the fractions studied. The effect of pH on the emulsions stability was consistent with the solubility of the different protein fractions at different chemical environment.

Keywords: chia, protein-rich fraction, O/W emulsions, destabilization kinetics

INTRODUCCIÓN

La *Salvia hispanica* L., comúnmente conocida como chía, es una planta anual de la familia Lamiaceae. Esta oleaginosa fue uno de los cultivos autóctonos de Mesoamérica en la época precolombina, durante la cual las civilizaciones aztecas y mayas emplearon esta pequeña semilla principalmente como alimento, medicina y para la elaboración de pinturas hasta el siglo XVI, cuando su cultivo se vio interrumpido a causa de la conquista española.

Actualmente, la chía es cultivada en países tales como Argentina, México, Bolivia, Colombia, Ecuador, Nicaragua y Guatemala (Muñoz *et al.* 2013). En Argentina, se desarrolla principalmente en las regiones subtropicales, incluyendo provincias del noroeste (Salta, Jujuy, Tucumán, Catamarca), como un cultivo alternativo con agregado de valor en origen y grandes perspectivas económicas.

La expansión global de este cultivo y la comercialización de productos que incluyen esta semilla, ha crecido rápidamente registrándose numerosas investigaciones científicas que han revalorizado sus beneficios nutricionales (Komprda *et al.* 2013; Capitani *et al.* 2012; Marineli *et al.* 2014; Martínez-Cruz *et al.* 2014; e Silva *et al.* 2014; Luna Pizarro *et al.* 2013). La ciencia moderna explica por qué las antiguas civilizaciones consideraban a la chía como un componente básico de sus dietas y luego de 500 años de haber sido relegado, este cultivo ofrece al mundo una nueva oportunidad de volver a los orígenes y mejorar la nutrición humana.

La composición de la chía es muy interesante desde el punto de vista nutricional, siendo la fuente vegetal con el mayor contenido de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) conocido hasta el presente (~60% ácido α -linolénico), altos tenores de antioxidantes naturales incluyendo ácidos clorogénico y cafeico (Ixtaina *et al.* 2011). Esta semilla posee altos niveles de fibra dietética (>30% del peso total) y es una buena fuente de vitamina B, calcio, fósforo, potasio, cinc y cobre. El contenido proteico de la chía se encuentra en el rango de 19-23%, superando al de trigo (14%), maíz (14%), arroz (8,5%) y cebada (9,2%) (Sandoval-Oliveros & Paredes-López 2012).

La industria de oleaginosas genera subproductos (tortas y harinas), constituidos por un alto contenido de fibra y proteínas, después de la obtención del aceite a partir de la semilla de chía. Estos subproductos se destinan principalmente a la alimentación animal, con un impacto económico y social muy reducido. Una alternativa para la revalorización de estos recursos es la aplicación de tecnologías modernas que añaden valor mediante la transformación de dichos productos con características y propiedades compatibles con la alimentación humana.

Las emulsiones son sistemas constituidos por dos líquidos inmiscibles (generalmente agua y aceite), en los cuales uno de éstos se encuentra disperso en forma de pequeñas gotas en el otro. La industria alimentaria comúnmente recurre a la ciencia y la tecnología de emulsiones para crear una serie de productos alimenticios que incluyen cremas, leches, bebidas, salsas, aderezos, helados, margarinas, etc. (McClements 1998). En este campo, las proteínas son ampliamente usadas como agentes emulsificantes. Sin embargo, sus propiedades funcionales pueden verse afectadas por factores tales como pH, temperatura, etc. En base a lo expuesto previamente, se propone como

objetivo del presente trabajo evaluar las propiedades emulsificantes de la fracción rica en proteínas de la harina desgrasada de chía (*Salvia hispanica* L.) obtenida por vía seca y de las distintas especies proteicas (globulinas, albúminas, glutelinas y prolaminas) en función de distintas condiciones de tratamiento y de su entorno químico (tratamiento térmico, pH).

MATERIALES Y MÉTODOS

La fracción rica en proteínas y las distintas fracciones proteicas de chía (*Salvia hispanica* L.) se obtuvieron de acuerdo al esquema de la **Figura 1**, a partir de las metodologías descritas a continuación.

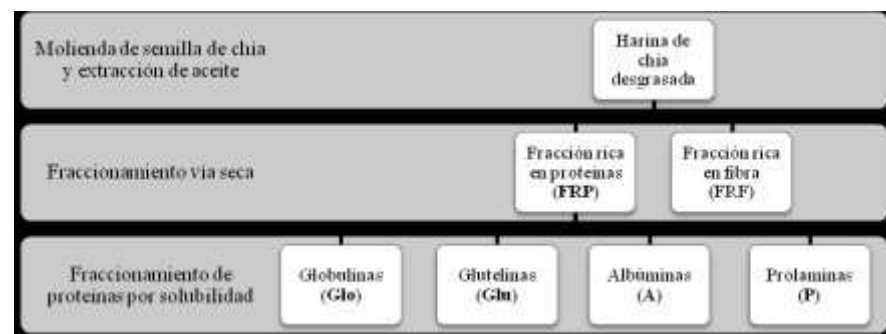


Figura 1: Esquema de la obtención de FRP y de las fracciones proteicas Globulinas, Glutelinas, Prolaminas y Albúminas a partir de harina desgrasada de chía

Obtención de la Fracción Rica en proteínas (FRP)

La FRP fue obtenida mediante un procesamiento por vía seca de la harina desgrasada de chía. A partir de 500 g de harina molida a una granulometría de 0,5 mm se practicó un tamizado empleando una malla tipo Tyler número 100 (140 µm) en un sistema de agitación Ro-Tap durante 20 min. La fracción que pasó por el tamiz (cernido) se consideró como rica en proteínas siendo almacenada para su posterior estudio.

Obtención de fracciones proteicas (Glu, Glo, A y P)

La obtención de las diferentes fracciones proteicas se realizó en base a las propiedades de solubilidad de las proteínas. Se realizó una extracción con agua a partir de 2 g (b.s.) de FRP en una proporción 1:10 p/v harina: solvente, los cuales se mantuvieron en agitación magnética durante 2 h a 48°C. Posteriormente se centrifugó a 8000 g por 30 min, 48°C y en el sobrenadante se obtuvo la fracción de albúminas (A). El precipitado se resuspendió en 20 ml de NaCl a 10% p/p y la mezcla se agitó durante 2 h a 48°C, posteriormente se centrifugó a 8000 g durante 30 min a 48°C para obtener en el sobrenadante la fracción de globulinas (Glo). El precipitado se resuspendió nuevamente en 20 ml de solución acuosa de isopropanol 70% p/v, se agitó por 2 h y se centrifugó a 8000 g durante 30 min a 48°C para obtener en el sobrenadante la fracción de prolaminas (P). Finalmente, este último precipitado se resuspendió en 20 ml de NaOH 0,1M, se agitó durante 2 h a 48°C y se centrifugó en las condiciones anteriores para obtener en el sobrenadante la fracción de las glutelinas (Glu).

Determinación del Perfil de Aminoácidos

El perfil de aminoácidos se determinó mediante derivatización con dietiletoximetilenmalonato por cromatografía HPLC (Agilent 1100 series, USA), de acuerdo a Alaiz *et al.* (1992), empleando D-L- α -ácido aminobutírico como estándar interno y una columna Nova Pack C18 300 x 3,9 mm en fase reversa 4 μ m. El análisis de la composición se efectuó a las distintas fracciones proteicas, partiendo de 2 mg de muestra. Se utilizó ácido D, L- α -aminobutírico como patrón interno, calculándose el contenido de cada aminoácido a partir de las respectivas curvas de calibración.

Solubilidad

La solubilidad de la FRP y las fracciones proteicas Glo, Glu, A y P fue determinada de acuerdo al método descrito por Bora (2002). Se pesaron 100 mg de cada muestra y se suspendieron en 20 ml de agua destilada, posteriormente se ajustó el pH de las suspensiones en un rango de 3 a 9 usando HCl y/o NaOH 1M. Las suspensiones se mantuvieron bajo agitación mecánica durante 30 min a temperatura ambiente. Posteriormente, se centrifugó a 4300 g, 30 min. Luego de su centrifugación se tomó una alícuota del sobrenadante para determinar el contenido de proteínas mediante el método de Lowry (Lowry *et al.* 1951)

Preparación de emulsiones

Se prepararon emulsiones aceite en agua (O/W) (25:75 p/v) con aceite de girasol (fase oleosa) y distintas concentraciones de la FRP y de las fracciones proteicas en un rango de 0,02-0,06 % p/v

de fase acuosa, conformando así la fase continua. También se prepararon emulsiones con la FRP y las fracciones proteicas desnaturalizadas mediante tratamiento térmico (100°C, 15 min) a distintas condiciones de pH (3-9). La homogeneización se realizó empleando un homogeneizador Ultra-Turrax con un rotor T25 (Janke & Kunkel GmbH, Saufen, Alemania), operando a 20.000 rpm durante 1 min (**Figura 2**).

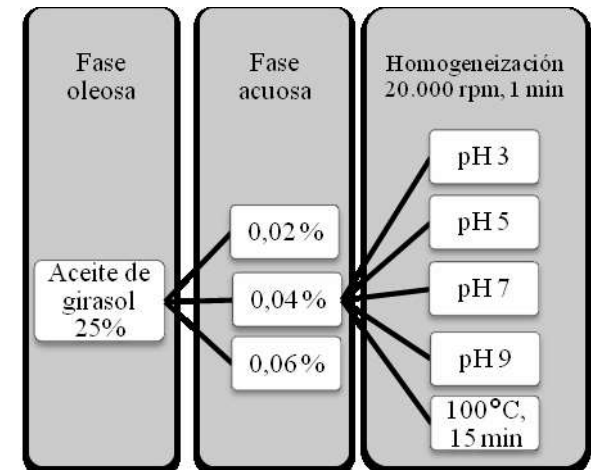


Figura 2: Diseño experimental empleado para la preparación de emulsiones O/W con las diferentes fracciones proteicas y FRP de chia

Distribución de tamaño de partículas

La distribución de tamaño de partículas y el diámetro De Brouker D [4,3] de las emulsiones se determinaron mediante un equipo de dispersión estática de luz Malvern Mastersizer 2000E (Malvern Instruments, Worcestershire, UK), en un rango de medición del equipo entre 0,1 y 1000 µm.

Cinética de desestabilización de las emulsiones

La cinética de desestabilización de las emulsiones se estudió mediante su caracterización óptica a través de la evolución del Backscattering (%BS) en función del tiempo para las diferentes condiciones analizadas de acuerdo al método descrito por Pan *et al.* (2002). Las determinaciones se llevaron a cabo través de medidas de dispersión de luz, en un analizador óptico vertical QuickScan (Beckman Coulter, Fullerton, USA). Este equipo permite hacer un barrido de la emulsión a lo largo del tubo de medida, obteniéndose una serie de perfiles del % BS vs. tiempo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La extracción por vía seca de la harina desgrasada de chíá (*Salvia hispanica* L.) permitió obtener 180,55 g/kg de fracción rica en proteínas (FRP), con un tenor de 446,2 g/kg de proteínas y 114 g/kg de fibra cruda.

Los porcentajes relativos de cada fracción proteica obtenida a partir de la FRP de chia fueron de 64,86% (Glo), 20,21% (Glu), 10,89% (A) y 4,04% (P), respectivamente.

Determinación del Perfil de Aminoácidos

La **Tabla 1** muestra la composición de aminoácidos de la FRP y de las diferentes fracciones proteicas estudiadas. Se puede observar que las fracciones P, Glo y Glu no contienen aminoácidos azufrados (cisteína y metionina), estando éstos presentes en la FRP. Las fracciones P y Glu presentaron una mayor proporción de aminoácidos no esenciales, especialmente ácido glutámico en el caso de P y serina (Glu). La fracción Glo presentó proporciones elevadas de serina, arginina y valina, mayores a los tenores de la FRP. Asimismo, la fracción A registró un alto contenido de aminoácidos tales como serina, treonina, valina y ácidos glutámico y aspártico. La FRP tuvo asociado un contenido considerable de aminoácidos azufrados y no esenciales ácidos, aunque limitante en lisina y triptófano, en comparación con el estándar FAO de 5,8 y 1,1 g/100g de lisina y triptofano, respectivamente.

Debido a la conversión parcial durante la hidrólisis de asparagina y glutamina a ácidos aspártico y glutámico respectivamente, la composición de asparagina y/o ácido aspártico y glutamina y/ácido glutámico son informados respectivamente como Asx y Glx.

Tabla 1: Composición aminoacídica de FRP y fracciones proteicas de chíá expresadas en g/100g

Aminoácido	Composición aminoacídica de FRP y fracciones proteicas de chíá (<i>Salvia hispanica</i> L.) g/100g				
	FRP	Albúminas	Globulinas	Glutelinas	Prolaminas
Asx	9,35	11,01	6,50	13,82	2,96
Glx	19,20	17,91	14,72	11,69	87,92
Ser	6,30	15,34	27,32	27,89	1,27

His	2,70	ND	ND	ND	1,92
Gli	4,95	6,60	ND	ND	ND
Tre	3,90	14,34	8,95	12,98	1,34
Arg	10,60	7,97	19,92	8,86	1,35
Ala	5,00	3,68	2,60	2,60	0,09
Pro	4,05	ND	ND	ND	ND
Tir	2,90	1,52	ND	ND	ND
Val	4,60	7,86	8,01	8,97	ND
Met	3,10	1,93	ND	ND	ND
Cis	2,43	ND	ND	ND	ND
Ile	3,20	1,65	0,70	1,09	0,11
Trp	0,80	0,97	6,75	4,76	ND
Leu	6,95	3,04	1,36	2,27	0,18
Fen	5,50	2,11	1,17	2,34	0,26
Lis	5,00	4,07	1,45	2,34	2,61

ND: No detectado

Solubilidad

La solubilidad determinada para las muestras de FRP y las fracciones proteicas en función del pH se muestra en la **Figura 3**.

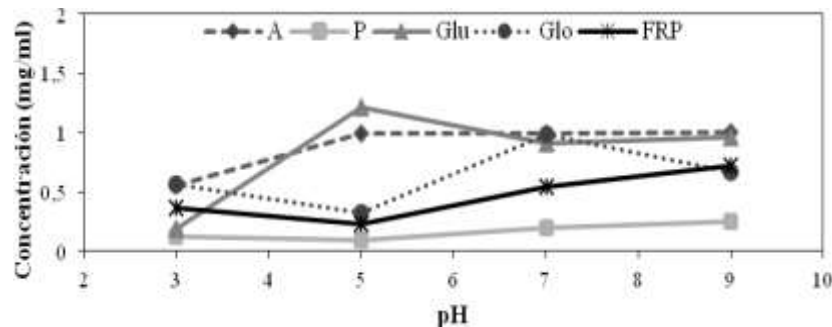


Figura 3: Solubilidad de la FRP y fracciones proteicas de chí a distintos niveles de pH

Las fracciones Glo, P y la FRP exhibieron tendencias similares, presentando la menor solubilidad a pH 5, probablemente debido a que este valor de pH está cercano al punto isoeléctrico (pI). Además, su estabilidad aumentó con el incremento del pH, registrando la máxima solubilidad a pH 9 para FRP y P y en medio neutro para Glo. Este hecho podría explicarse por la elevada hidrofobicidad asociada a las proteínas de chí (Sandoval-Oliveros & Paredes-López 2012). Por otra parte, Glu y A presentaron su máxima solubilidad a pH 5.

Emulsiones O/W

Distribución de tamaño de partículas

La distribución de tamaño de partículas así como el diámetro D [4,3] de las diferentes emulsiones obtenidas, se determinaron inmediatamente luego de su preparación. En la **Figura 4** se presentan las distribuciones de tamaño de partículas correspondientes a las emulsiones con un contenido de 0,04% p/v de las diferentes fracciones proteicas de chí y de la FRP. En todos los casos las distribuciones fueron monomodales, con un desplazamiento de la curva en las emulsiones con P hacia tamaños de partículas menores, con un mayor %V.

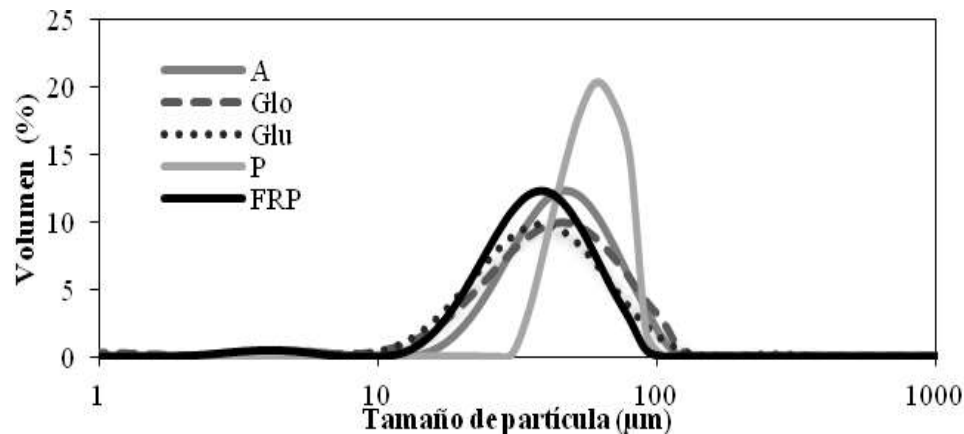


Figura 4: Distribución de tamaño de partículas correspondiente a emulsiones O/W con 0,04% p/v de las distintas fracciones proteicas y FRP de chia

En la **Tabla 2** se exhiben los diámetros D [4,3] correspondientes a las distintas emulsiones analizadas en función de la concentración, pH y aplicación de tratamiento térmico. Se obtuvieron tamaños de partículas en el rango de 30-150 µm, dependiendo de las variables empleadas en cada caso. Las emulsiones con FRP presentaron mayores diámetros de partícula a pH 3 y 5, los cuales fueron coincidentes con la baja solubilidad asociada a esta fracción a estos niveles de pH. La desnaturalización de la FRP permitió obtener emulsiones con D [4,3] similares a las FRP nativa.

Las fracciones proteicas registraron un menor tamaño de partículas a concentraciones de 0,04 % p/v. El D [4,3] correspondiente a las emulsiones preparadas a partir de las distintas fracciones proteicas no se vio sustancialmente afectado por el pH en el rango estudiado (3-9). Sin embargo, pudo

observarse que niveles de pH entre 7-9 favorecieron la obtención de emulsiones con un menor tamaño de partícula en el caso de Glo y Glu. Asimismo, se registró una concordancia entre los valores de D [4,3] y los de solubilidad. En este sentido, a niveles de pH en los cuales las fracciones proteicas presentaron una baja solubilidad, los diámetros medios fueron mayores o bien no pudieron ser determinados debido a la desestabilización inmediata de las emulsiones.

Tabla 2: Diámetros D [4,3] de emulsiones O/W estabilizadas con diferentes concentraciones de fracciones proteicas de chia y FRP nativas y/o desnaturalizadas vs. Ph

		D [4,3] (µm)				
		FPR	Glo	Glu	A	P
% (p/v)	0,02	60,07	55,03	ND	58,28	ND
	0,04	51,27	32,86	ND	45,43	ND
	0,06	45,01	ND	ND	ND	ND
pH	3	97,04	45,48	71,04	56,88	ND
	5	159,34	ND	75,76	39,34	ND
	7	42,06	42,64	41,93	44,18	114,78
	9	48,70	38,67	33,81	ND	55,36
Desnaturalizada		42,15	34,51	36,63	35,89	ND

*ND: No determinado

*El pH de emulsiones con 0,02-0,06 % p/v de fracción proteica estuvo en el rango de 8,5-8,7

*La determinación del D [4,3] a los diferentes niveles de pH se realizó en emulsiones con un contenido de 0,04 % p/v de proteínas

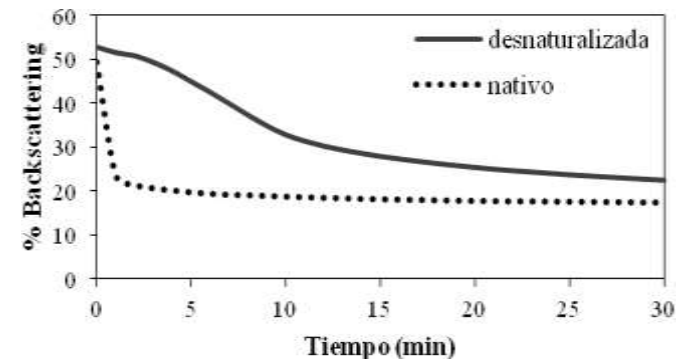
Cinéticas de desestabilización

La cinética de desestabilización de las distintas emulsiones fue determinada luego de su preparación por un periodo de 30 min. Las emulsiones preparadas con las distintas fracciones proteicas de chía presentaron una baja estabilidad global luego de un corto tiempo de su preparación, principalmente debido a la desestabilización por cremado. Dicho proceso fue observado a través de la disminución del % BS en la parte inferior del tubo de medición así como de un incremento simultáneo de este parámetro en la parte superior del mismo, lo cual puede atribuirse a la migración de las gotas de aceite. Así, en la mayoría de los sistemas el BS inicial fue ~50%, el cual registró una importante disminución durante los primeros 5 min, con excepción de la emulsión estabilizada con FRP desnaturada y fracción Glo.

Las emulsiones con 0,04% p/v de fracción proteica presentaron la mayor estabilidad, respecto al barrido de concentraciones analizados (datos no mostrados).

El tratamiento térmico de las fracciones proteicas (Glu, P, A) no tuvo una influencia significativa sobre la estabilidad de las emulsiones, a excepción de las emulsiones con Glo y FRP desnaturada en las cuales se incrementó (**Figura 5**).

Figura 5: Cinética de desestabilización de emulsiones O/W estabilizadas con 0,04% p/v de FRP, con y sin la aplicación de tratamiento térmico (similar comportamiento se obtuvo para la fracción Glo)



El efecto del pH sobre la estabilidad de las diferentes emulsiones fue concordante con los resultados obtenidos en los ensayos de solubilidad. Como puede observarse en la **Figura 6a**, las emulsiones estabilizadas con P presentaron %BS inicial bajo, coincidente con la baja solubilidad de esta fracción respecto a las demás especies estudiadas así como una mayor estabilidad frente al cremado a pH 9, lo cual podría estar relacionado con la máxima solubilidad de esta fracción en medio alcalino. La fracción Glo dio lugar a las emulsiones más estables frente al cremado a niveles de pH de 3, 7 y 9 (**Figura 6b**). Sin embargo, cuando las emulsiones se prepararon a pH 5 resultaron inestables, lo cual podría asociarse a la solubilidad mínima de las Glo a este nivel de pH. Para las fracciones Glu y FRP la mayor estabilidad de sus respectivas emulsiones se registró a pH 9 mientras que para emulsiones con A este comportamiento se evidenció a pH 5 (datos no mostrados).

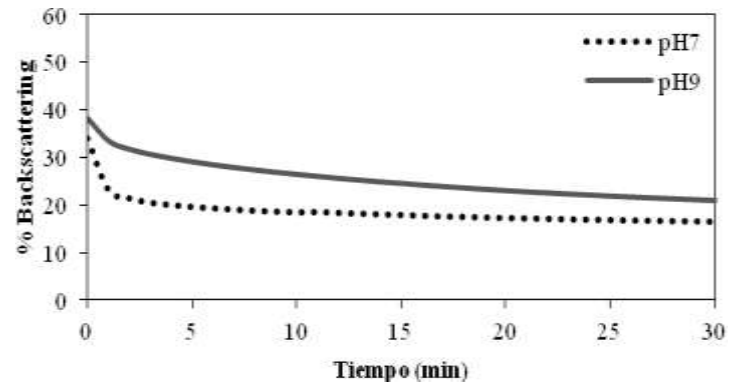
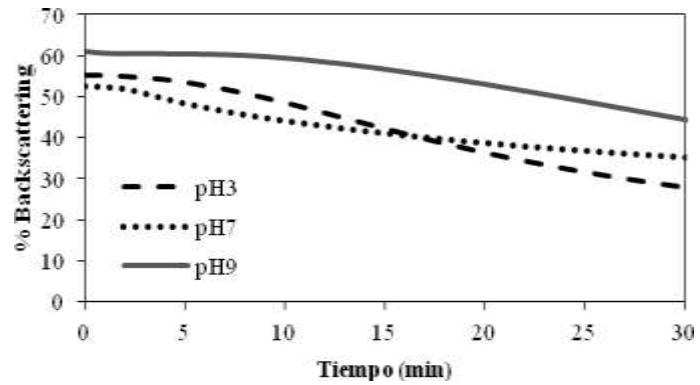


Figura 6: Cinética de desestabilización de emulsiones O/W estabilizadas con fracción **A)** Glo y **B)** P a diferentes niveles de pH



CONCLUSIONES

Las propiedades emulsificantes de una fracción rica en proteínas y de distintas especies proteicas (globulinas, albúminas, glutelinas y prolaminas) de chía fueron evaluadas a partir de emulsiones O/W con distintos contenidos de dichas fracciones, nativas o desnaturalizadas, a diferentes niveles de pH.

Las emulsiones O/W resultantes exhibieron una distribución de tamaño de partículas en volumen monomodal y diámetros D [4,3] en el rango de 30-150 µm. Los valores de D [4,3] obtenidos se relacionaron con la solubilidad de las fracciones proteicas, obteniéndose diámetros medios mayores a niveles de pH en los cuales las fracciones proteicas presentaron una baja solubilidad.

Las cinéticas de desestabilización de dichas emulsiones, se determinaron a través de la evolución del Backscattering en función del tiempo. En general, las emulsiones O/W obtenidas a partir de las diferentes fracciones proteicas y de la FRP presentaron una baja estabilidad global, registrándose su desestabilización por un proceso de cremado luego de un corto tiempo de su preparación. Niveles de concentración de 0,04% p/v, pH 7 y 9 favorecieron la estabilidad de las emulsiones formuladas con Glo, Glu y FRP siendo las correspondientes a la fracción Glo, las más estables. La aplicación del tratamiento térmico sobre la FRP -en las condiciones ensayadas- mejoró la estabilidad de las emulsiones obtenidas a partir de la misma.

BIBLIOGRAFÍA

- Alaiz M, Navarro JL, Girón J, & Vioque E. 1992. Amino acid analysis by high-performance liquid chromatography after derivatization with diethyl ethoxymethylenemalonate. *Journal of Chromatography A*, 591(1), 181-186.
- Bora PS. 2002. Functional properties of native and succinylated lentil (*Lens culinaris*) globulins. *Food Chemistry*, 77(2), 171-176.
- Capitani MI, Spotorno V, Nolasco SM, & Tomás MC. 2012. Physicochemical and functional characterization of by-products from chia (*Salvia hispanica* L.) seeds of Argentina. *LWT-Food Science and Technology*, 45(1), 94-102.
- e Silva BC, dos Santos HMC, Montanher PF, Boeing JS, Almeida V & Visentainer JV. 2014. Incorporation of Omega-3 Fatty Acids in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fed Chia (*Salvia hispanica* L.) Bran. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91(3), 429-437.
- Komprda T, Zorníková G, Rozíková V, Borkovcová M & Przywarová A. 2013. The effect of dietary *Salvia hispanica* seed on the content of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in tissues of selected animal species, including edible insects. *Journal of Food Composition and Analysis*, 32(1), 36-43.
- Ixtaina VY., Martínez ML, Spotorno V, Mateo CM, Maestri DM & Diehl BW. 2011. Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(2), 166-174.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL & Randall RJ. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*. 193, 265-275.

- Luna Pizarro P, Almeida EL, Sammán NC & Chang Y K. 2013. Evaluation of whole chia (*Salvia hispanica* L.) flour and hydrogenated vegetable fat in pound cake. *LWT - Food Science and Technology*, 54(1), 73-79.
- Marineli RdS, Moraes ÉA, Lenquiste SA, Godoy AT, Eberlin MN & Maróstica Jr MR. 2014. Chemical characterization and antioxidant potential of Chilean chia seeds and oil (*Salvia hispanica* L.). *LWT - Food Science and Technology*.
- Martínez-Cruz O & Paredes-López O. 2014. Phytochemical profile and nutraceutical potential of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) by ultra high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1346(0), 43-48.
- McClements DJ. 1998. *Food emulsions: principles, practice, and techniques*. CRC Press. USA.
- Muñoz LA, Cobos A, Diaz O, & Aguilera JM. 2013. Chia seed (*Salvia hispanica*): an ancient grain and a new functional food. *Food Reviews International*, 29(4), 394-408.
- Pan LG, Tomás MC & Añón MC. 2002. Effect of sunflower lecithins on the stability of water-in-oil and oil-in-water emulsions. *Journal of Surfactants and Detergents*, 5(2), 135-143.
- Sandoval-Oliveros MR & Paredes-López O. 2012. Isolation and characterization of proteins from chia seeds (*Salvia hispanica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(1), 193-201.

RELACIÓN ENTRE ORIGEN FLORAL Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN MIELES ARTESANALES DE CATAMARCA

Kivatinitz S.C.¹, Vergara-Roig V.A.² y Costa M.C.³

1: Departamento de Química Biológica-CIQUIBIC, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Medina Allende y Haya de La Torre, Ciudad Universitaria, X5000HUA Córdoba, Argentina.

2: Dpto. Química, FACEN- Universidad Nacional de Catamarca, Av. Belgrano 300. Catamarca, Argentina

3: Área Proyectos Especiales. FCEFyN- Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

skivatinitz@gmail.com

Resumen: El objetivo de la presente investigación fue contribuir al conocimiento científico de la calidad de las mieles artesanales como una manera eficiente de aumentar su valor comercial y como alimento nutracéutico natural. El concepto es que las mieles artesanales deberían revalorizarse, ya que son un producto renovable, no maderable, del monte nativo, dando sustento a productores que generalmente están agrupados en cooperativas y utilizan la producción de miel como una fuente de ingresos accesoria. El estudio se realizó con 39 mieles de Catamarca, las cuales mostraron preponderancia de flora nativa sobre la flora exótica y con altos niveles de antioxidantes. Los resultados sugieren que hay especies botánicas que contribuyen beneficiosamente a la capacidad antioxidante como la Brea (*Cercidium praecox*) que mostró correlación positiva con el

contenido de polifenoles y de capacidad antiradicalaria. El quebracho (*Schinopsis lorentzii*) fue un caso particular ya que contribuyó a una mayor capacidad antiradicalaria sin mostrar correlación con los contenidos de polifenoles y flavonoides. Estos hallazgos enfatizan la importancia de la flora nativa del bosque como recurso natural y de promover la reforestación con especies que incidieron en la producción de mieles con mejor capacidad antioxidante, como Brea y Quebracho.

Palabras clave: Mielles Artesanales, origen floral y características antioxidantes

Abstract: The objective of this research was to contribute to scientific knowledge of the quality of artisanal honeys as a way to increase their market value and as a natural nutraceutical food. The concept is that artisanal honeys should be revalued as they are not timber, native forest, renewable product giving support to producers who are generally grouped into cooperatives and used honey production as a secondary economic source. Honey samples from Catamarca (39) were analyzed. They showed a preponderance of native flora and high levels of antioxidant capacity. The results suggest that some botanical species as Brea (*Cercidium praecox*) contributed positively to the antioxidant capacity showed positive correlation with the polyphenol content and antiradical capacity. The quebracho (*Schinopsis lorentzii*) was a special case because it contributed to higher antiradical power without showing correlation with the contents of polyphenols and flavonoids. These findings emphasize the importance of the native flora of the forest as a natural resource and show the importance of promote reforestation with species that affected

the production of honey is good antioxidant capacity, as Brea and Quebracho.

Keywords: Artisanal honeys, floral origin y antioxidant characteristics

INTRODUCCIÓN

El objetivo de la presente investigación fue contribuir al conocimiento científico de la calidad de las mieles artesanales como una manera eficiente de aumentar su valor tanto como alimento nutracéutico natural y como un producto comercial. La idea detrás de este objetivo es que las mieles artesanales deberían revalorizarse, ya que son un producto renovable, no maderable, del monte nativo, dando sustento a productores que generalmente están agrupados en cooperativas y utilizan la producción de miel como una fuente de ingresos accesoria. Los productos alimentarios provenientes de regiones con poca actividad antrópica son cada vez más apreciados por los consumidores ya que se consideran "orgánicos" y menos expuestos a agroquímicos. Además cada vez se utiliza más la presencia de polifenoles y flavonoides para promocionar cualidades especiales en alimentos. Un ejemplo muy conocido de esto son los vinos, pero más recientemente hay mieles de otros países, como Portugal (Feás, Pires et al. 2010) y Australia (D'Arcy 2005), que han realizado una fuerte apuesta a promover la presencia de estas moléculas antioxidantes en sus mieles.

El estudio se realizó con mieles de Catamarca ya que en esa provincia el impacto de la actividad agrícola es menor que otras provincias. Las características físico-químicas y el origen botánico de mieles de Catamarca han sido estudiadas parcialmente (Costa, Vergara-Roig et al. 2013), en la literatura se puede encontrar un reporte de las características físico químicas y origen floral de 7 muestras de mieles de apiarios situados en

Huillapima, Sumalao, Nueva Coneta, San Antonio y Pomancillo (Quiroga, Luna et al. 2008).

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos

2,4-Dinitrofenilhidrazina (DNPH), 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) Sigma (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany). Etanol A.C.S (Cicarelli). N-N'-Metilen-bis-acrilamida y acrilamida de Sigma (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO). Hidrocloruro de guanidina (ultrapuro) de Genbiotech (Buenos Aires, Argentina). Acido tricloroacético, ácido acético glacial, ácido gálico, acetato de etilo, peróxido de hidrógeno, ácido clorhídrico, alcohol metílico, alcohol etílico, acetato de etilo, cloruro de metileno, sulfato de sodio, hexano de Cicarelli (Buenos Aires), Argentina; Azul de bromofenol (Anedra), Azul brillante de Coomassie R250 (Anedra), agarosa (Anedra), agar (Anedra), ácido gálico monohidrato (Carlo Erba). Fosfato de sodio dibásico, anhidro (Baker). Reactivo de Bradford (Tetrahedron).

Muestras

Se utilizaron 39 muestras recogidas en distintas localidades de la Provincia de Catamarca que correspondieron a dos de las seis ecoregiones presentes en Catamarca, el Chaco y las Yungas (Y). El Chaco puede subdividirse en tres ecotonos: Chaco árido (Ch) y Chaco semiárido y Chaco serrano que nosotros tomamos el criterio de identificar como Chaco de transición (ChT). En la **Tabla 1** se muestra la localización de cada muestra y la ecoregión a la que pertenece.

Métodos

Se determinó humedad indirectamente midiendo el índice de refracción a 20°C.

Se midió color directamente en mm de la escala Pfund, mediante un Analizador de color para miel (Colorímetro tipo Hanna, Mod. C221) y la intensidad de color fue calculada observando el criterio de G. Beretta y otros (Beretta, Granata *et al.* 2005). El contenido en cenizas totales se determinó por gravimetría, calcinando una masa conocida de miel a una temperatura de 550 °C. La acidez libre se practicó valorando soluciones acuosas de miel, con hidróxido de sodio hasta pH=8,5.

La determinación de proteínas totales se realizó según el método de Bradford (Bradford 1976), adaptado para miel (de Sá Otero, Díaz Losada *et al.* 2011).

El contenido de fenoles totales de las muestras de miel fue determinado por el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu mediante lectura de la absorbancia a 765 nm, en un espectrofotómetro UV-Vis BioSpec-mini (Shimadzu, Kyoto, Japan), de soluciones filtradas de miel, siguiendo la metodología descrita (Kaškonienė, Maruška *et al.* 2009).

El contenido de flavonoides totales en las mieles estudiadas, fue realizado midiendo la absorbancia a 510 nm en un espectrofotómetro UV-Vis Shimadzu Bio-Spec mini, de un complejo coloreado generado por la reacción de los flavonoides con el AlCl₃ en presencia NaNO₂ con un medio fuertemente alcalino, de acuerdo al ensayo colorimétrico desarrollado por Zhishen (Zhishen, Mengcheng *et al.* 1999).

La capacidad antiradicalaria se evaluó por espectrofotometría UV en términos de la capacidad de una solución de miel, para inhibir

el radical estable DPPH, evidenciado por la decoloración de dicho radical. Se observó la metodología descrita G. Beretta (Beretta, Granata *et al.* 2005) y modificada por nosotros (Scheidegger, Radici *et al.* 2013).

El origen botánico de las muestras se realizó utilizando el análisis melisopalínológico analizando el polen presente en las muestras de miel se realizaron siguiendo la metodología reportada por Louveaux y Erdtman (Erdtman 1960; Louveaux, Maurizio *et al.* 1978). Los tipos polínicos fueron identificados por comparación con una colección de referencia (Palinoteca de la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de la Universidad Nacional de Córdoba) y con material recolectado de las plantas ubicadas en los alrededores de las colmenas visitadas en el muestreo.

El Análisis estadístico multivariado, se realizó utilizando el software para análisis estadístico Info Stat, versión profesional 2013 (Di Rienzo, Casanoves *et al.* 2011).

RESULTADOS

Se realizó el análisis polínico de las 39 muestras de miel (Materiales y métodos). La presencia de polen de las especies más abundantes en cada miel, se muestra en la **Tabla 1**, junto con la identificación de procedencia.

Tabla 1: Procedencia de las muestras de miel, origen floral y porcentaje de abundancia de los diferentes tipos polínicos en cada muestra. Se identifica la zona fitogeográfica: **Chaco (Ch)**; **Chaco de transición (ChT)** y **Yungas (Y)**

Muestras	Localidades	(%) Pólenes principales
01 Ch	Nueva Coneta-Capayán	24 <i>Mimosa ephedroides</i> ; 23 <i>Larrea divaricata</i> ; 16 <i>Prosopis</i> spp.; 6 <i>Cercidium praecox</i>
02 Ch	Nueva Coneta-Capayán	44 <i>Larrea divaricata</i> ; 20 <i>Prosopis</i> spp.; 14 <i>Mimosa ephedroides</i>
03 ChT	Trampasacha-Capayán	97 <i>Schinopsis</i> sp.
04 Y	Alijilán-Santa Rosa	28 <i>Myrcianthes mato</i> ; 20 <i>Tournefortia lilloi</i> ; 19 <i>Aloysia grattissima</i> ; 11 <i>Larrea divaricata</i> ; 10 <i>Schinus areira</i>
05 Y	Alijilán-Santa Rosa	63 <i>Tournefortia lilloi</i>
06 Y	Alijilán-Santa Rosa	53 <i>Tournefortia lilloi</i>
07 Y	Alijilán-Santa Rosa	90 <i>Tournefortia lilloi</i>
08 Ch	Nueva Coneta-Capayán	60 <i>Prosopis</i> spp.
09 Ch	Huillapima-Capayán	39 <i>Prosopis</i> spp.; 22 <i>Geoffroea decorticans</i> ; 17 <i>Larrea cuneifolia</i> ; 17 <i>Mimosa ephedroides</i>
10 Ch	Nueva Coneta	29 <i>Larrea divaricata</i> ; 28 <i>Citrus</i> spp.; 17 <i>Cercidium praecox</i>
11 Ch	Huillapima-Capayán	57 <i>Citrus</i> spp.; 12 <i>Larrea divaricata</i>
12 Ch	La Antena	26 <i>Larrea divaricata</i> ; 19 <i>Prosopis</i> spp.; 10 <i>Cercidium praecox</i>
13 Ch	Aeropuerto Capayán	58 <i>Larrea divaricata</i> ; 35 <i>Prosopis</i> spp.
14 ChT	La Bajada- Paclín	16 <i>Citrus</i> spp.; 15 <i>Prosopis</i> spp.; 13 <i>Cercidium praecox</i> ; 13 <i>Parkinsonia aculeata</i>
15 Ch	San Antonio-Fray M. Esquiú	13 <i>Prosopis</i> spp.; 10 <i>Glandularia dissecta</i> ; 9 <i>Parkinsonia aculeata</i>

16 ChT	Choya-Andalgalá	55 <i>Mimosa</i> spp.; 23 <i>Acacia</i> spp.
17 ChT	Choya-Andalgalá	47 <i>Adesmia</i> sp.; 19 <i>Mimosa ephedroides</i>
18 Ch	Medanitos-Tinogasta	48 <i>Prosopis</i> spp.; 12 <i>Larrea divaricata</i>
19 ChT	Chumbicha-Capayán	57 <i>Cercidium praecox</i> ; 13 <i>Schinus</i> sp.; 10 <i>Larrea</i> sp.
20 ChT	Chumbicha-Capayán	21 <i>Prosopis</i> spp.; 18 <i>Larrea divaricata</i> ; 15 <i>Lycium</i> sp.
21 ChT	Chumbicha-Capayán	17 <i>Prosopis</i> spp.; 15 <i>Larrea cuneifolia</i>
22 ChT	Chumbicha-Capayán	80 <i>Cercidium praecox</i>
23 ChT	Chumbicha-Capayán	25 <i>Prosopis</i> spp.; 15 <i>Larrea divaricata</i> ; 12 <i>Xinemia Americana</i> ; 11 <i>Adesmia</i> sp.; 10 <i>Cercidium praecox</i>
24 ChT	Chumbicha-Capayán	40 <i>Senna aphylla</i> ; 29 <i>Cercidium praecox</i>
25 Ch	La Costa-Capayán	82 <i>Prosopis</i> spp.
26 Ch	Recreo-La Paz	13 <i>Geoffroea decorticans</i> ; 12 <i>Larrea divaricata</i> ; 10 <i>Mimosa</i> spp.; 10 <i>Ziziphus mistol</i>
27 Ch	Recreo-La Paz	16 <i>Prosopis</i> spp.; 13 <i>Ziziphus mistol</i> ; 12 <i>Mimoziganthus carinatus</i> ; 9 <i>Xinemia Americana</i>
28 Ch	Recreo-La Paz	18 <i>Ziziphus mistol</i> ; 16 <i>Prosopis</i> spp.; 9 <i>Larrea</i> spp.
29 ChT	Balcozna- Paclín	48 <i>Parkinsonia aculeata</i> ; 15 <i>Ziziphus mistol</i> ; 13 <i>Baccharis</i> sp.
30 ChT	Palo Labrado-Paclín	57 <i>Zanthoxylum coco</i> ; 21 <i>Mimosa</i> spp.
31 ChT	Palo Labrado-Paclín	23 <i>Larrea divaricata</i> ; 20 <i>Parkinsonia aculeata</i> ; 19 <i>Mimosa ephedroides</i>
32 Y	La Higuera	36 <i>Ziziphus mistol</i> ; 12 <i>Baccharis</i> sp.; 10 <i>Tournefortia lilloi</i> ; 9 <i>Schinopsis</i> spp.
33 Ch	Choya-Andalgalá	51 <i>Prosopis</i> spp.; 18 <i>Senna aphylla</i>
34 Y	Alijilán-Santa Rosa	27 <i>Tournefortia lilloi</i> ; 11 <i>Myrcianthes mato</i> ; 11 <i>Larrea</i> spp.

35 Ch	Nueva Capayán	Coneta-	34 <i>Prosopis</i> spp.; 26 <i>Larrea divaricata</i> ; 9 <i>Cercidium praecox</i> ; 8 <i>Mimosa</i> spp.
36 Ch	Nueva Capayán	Coneta-	40 <i>Prosopis</i> spp.; 10 <i>Larrea divaricata</i> ; 11 <i>Capparis atamisquea</i> ; 10 <i>Vicia</i> spp.
37 Ch	La Antena- Viejo	Valle	28 <i>Prosopis</i> spp.; 15 <i>Larrea divaricata</i>
38 Ch	Aeropuerto- Capayán		41 <i>Prosopis</i> spp.; 15 <i>Larrea divaricata</i>
39 Ch	Coneta- Capayán		31 <i>Prosopis</i> spp.; 27 <i>Mimosa ephedroides</i> ; 9 <i>Larrea divaricata</i> ; 9 <i>Schinus fasciculatus</i>

En la **Tabla 1**, se puede observar la abundancia de los principales tipos polínicos en cada muestra y la frecuencia de aparición en el lote de mieles estudiadas y se identifica la región fitogeográfica. Se realizó el análisis de los espectros polínicos completos (identificación de más del 90% de los pólenes presentes). En la Figura 1 se resumen los datos en forma de histograma, ordenados según la frecuencia de aparición y el porcentaje de presencia en cada muestra de miel. Es importante destacar la fuerte presencia de *Prosopis* sp. (87%) y *Larrea divaricata* (82%) ya que en solo 4 mieles (3, 7, 29 y 30) no se encontró polen de ninguna de estas especies. Estas cuatro muestras corresponden a mieles monoflorales de *Schinopsis*, *Tournefortia*, *Parkinsonia aculeata* y *Zanthoxylum coco*. También se observó que 27 especies estaban presentes en al menos 6 muestras (15%). Las únicos tipos polínicos de plantas exóticas presentes fueron *Eucalyptus*, *Melilotus albus*, *Brassica* sp. y *Citrus*.

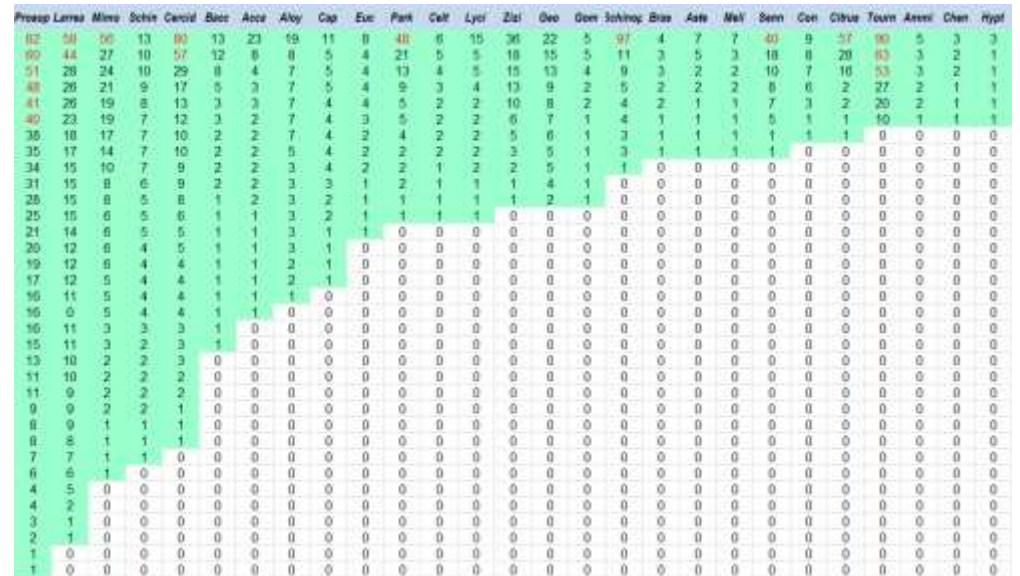


Figura 1: Abundancia de tipos polínicos y frecuencia de aparición en las mieles. En columnas se muestran los principales tipos polínicos identificados (Pros = *Prosopis* sp.; Larrea = *Larrea* sp.; Mimo = *Mimosa* spp.; Schin = *Schinus* sp.; Cercid = *Cercidium praecox*; Bacc = *Baccharis* sp.; Acca = *Acacia* spp.; Aloy = *Aloysia grattissima*; Cap = *Capparis atamisquea*; Euc = *Eucalyptus* sp.; Park = *Parkinsonia aculeata* ; Celt = *Celtis ehrebergiana*; Lyci = *Lycium* sp.; Zizi = *Ziziphus mistol*; Geo = *Geoffroea decorticans*; Gom = *Gomphrena pulchella*; Schino = *Schinopsis* sp.; Bras = Tipo Brassica; Aste = *Asteraceae*; Meli = *Melilotus albus*; Senn = *Senna aphylla*; Con = *Conyza microphylla*; Citrus = *Citrus* spp.; Tour = *Tournefortia lilloi*; Ammi = *Ammi visnaga*; Chen = *Chenopodium* sp. e Hypt = *Hyptis mutabilis*). Los valores son los porcentajes de abundancia observados en las diferentes mieles. En sombra verde, se

destacan las muestras con un porcentaje superior al 2%, para visualizar rápidamente la frecuencia.

Se realizó un análisis multivariado por componentes principales con el objetivo de evaluar la agrupación según el origen fitogeográfico (**Tabla 1**). Se eligieron como variables las 27 especies señaladas en la **Figura 1**. Este tipo de análisis transforma un conjunto de variables correlacionadas (variables originales) en otro conjunto de variables no correlacionadas, denominadas componentes principales (CP). Se evidenció que las muestras agrupadas de acuerdo a las 3 zonas fitogeográficas (**Tabla 1**) fueron claramente distintas entre sí por el tipo de pólenes que presentaban (**Figura 2**).

Cada CP es una combinación lineal de las variables originales y de los coeficientes que el programa asigna a cada una de estas variables. Mayor magnitud de coeficiente, significa una mayor importancia de la variable en la discriminación. Por lo tanto, se infiere que las especies botánicas con mayores coeficientes son aquellas que diferenciaron mejor los grupos.

En este caso *Prosopis* sp., *Baccharis* sp., *Gomphrena pulchella*, *Ziziphus mistol*, *Tournefortia lilloi* y *Mimosa* sp. fueron importantes en al menos una de las componentes (**Tabla 2**). La tasa de error en la clasificación resultó inexistente, en total concordancia con la ubicación de puntos en los grupos (**Figura 2**).

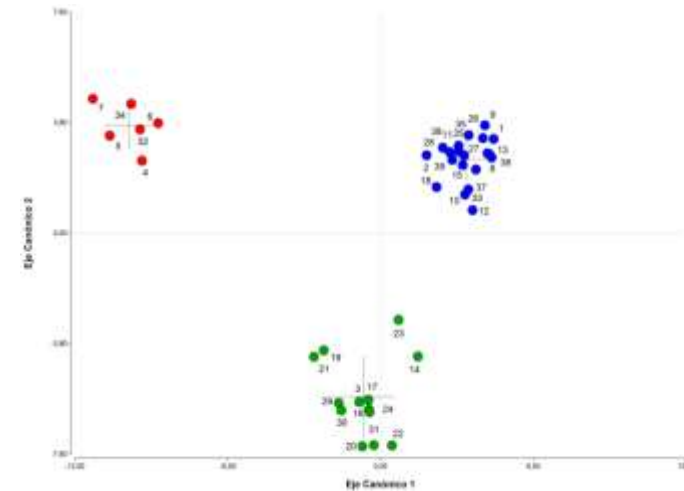


Figura 2: Agrupación de las mieles de acuerdo al análisis de componentes principales según su origen botánico. Las zonas fitogeográficas corresponden a las señaladas en la **Tabla 1** y la clave de color utilizada es la misma: rojo para las Yungas, azul para el Chaco y verde para Chaco de Transición.

Tabla 2: Coeficientes de las componentes principales por especie botánica

	CP 1	CP 2
<i>Prosopis</i> sp.	2,25	2,58
<i>Larrea</i> sp.	1,18	1,51
<i>Schinus</i> sp.	0,80	1,34
<i>Mimosa</i> sp.	1,71	0,75
<i>Cercidium praecox</i>	0,67	0,14
<i>Baccharis</i> sp.	1,37	2,51

<i>Acacia</i> sp.	-0,67	-0,20
<i>Aloysia grattissima</i>	-1,00	0,94
<i>Celtis ehrembergiana</i>	0,09	-0,08
<i>Parkinsonia aculeata</i>	1,01	-1,82
<i>Lycium</i> sp.	-0,09	-1,22
<i>Geoffroea decorticans</i>	-0,02	0,93
<i>Ziziphus mistol</i>	-1,91	-0,12
<i>Schinopsis</i> sp.	0,90	0,88
<i>Senna aphylla</i>	0,22	0,06
<i>Condalia microphylla</i>	0,34	0,13
<i>Tournefortia lilloi</i>	-0,77	1,84
<i>Hyptis mutabilis</i>	0,71	1,53
<i>Capparis atamisquea</i>	0,06	0,003
<i>Gomphrena pulchella</i>	1,94	1,45
<i>Eucalyptus</i> sp.	0,40	0,17
<i>Melilotus albus</i>	0,51	0,62
Asteraceae	-0,23	1,76
Tipo Brassica	-0,54	-0,53
Tipo Chenopodium	-0,40	0,33
<i>Ammi visnaga</i>	0,13	0,68
<i>Citrus</i> spp.	1,19	0,91

Las mieles del Chaco fueron las más ricas en *Prosopis*, *Larrea*, y *Geoffroea*. Estas mieles no presentaron pólenes de *Lycium* sp. Las mieles de la Yunga presentaron un mayor contenido polínico de las especies *Tournefortia*, *Aloysia grattissima* y varias especies representantes de la familia Asteraceae. Estas muestras no contuvieron *Mimosa* spp. Las mieles procedentes de lo que se denominó Chaco de Transición se caracterizaron por ser las de mayor contenido de *Cercidium praecox*, *Parkinsonia aculeata*,

Capparis atamisquea y *Schinopsis* sp. Se observó una relación positiva entre las propiedades antioxidantes y la presencia de determinadas especies botánicas como *Lycium* y *Schinus* spp.

Relación entre la capacidad antioxidante y origen fitogeográfico de las mieles.

Se analizaron los datos obtenidos de las variables: contenido de polifenoles, proteínas y flavonoides totales junto a la capacidad antiradicalaria (CAR), color (Beretta), cenizas totales y acidez, agrupando las muestras según las regiones fitogeográficas de procedencia. Se observaron diferencias significativas en el contenido de proteínas ya que el grupo Y, tuvo un valor mayor; el contenido de cenizas, acidez y CAR fueron menores en el grupo Ch (Ver **Tabla 3**). La mayoría de las muestras de miel presentaron parámetros de calidad dentro de los valores establecidos como permitidos por el CAA. Es destacable notar que los valores mostraron una distribución normal y que pocas muestras se alejaron de los valores promedio. Algunas de las mieles que presentaron los mayores valores de cenizas también mostraron valores elevados de acidez (17, 6 y 23), sin embargo ninguna de estas mieles correspondió a las 4 que mostraron mayores valores de HMF (1, 12, 14 y 15). Esto estaría indicando que la acidez es una característica propia de esas mieles y no se debe a un proceso de envejecimiento postcosecha.

Tabla 3: Análisis comparativo de variables físico-químicas discriminadas por zona fitogeográfica. Se muestran los promedios \pm la desviación estándar y los valores de p obtenidos de la prueba t de Student * Ch vs. ChT, ** Ch vs. Y, ***ChT vs. Y; NS: no significativo

Variables	Ch	ChT	Y	*p	**p	***p
Polifenoles	3,5 \pm 1,2	5,4 \pm 1,5	4,0 \pm 1,1	0,001	NS	0,059
Proteínas	427 \pm 168	384 \pm 134	567 \pm 83	NS	0,062	0,007
Flavonoides	4,1 \pm 1,6	5,1 \pm 1,6	4,8 \pm 2,0	0,101	NS	NS
CAR	0,02 \pm 0,01	0,04 \pm 0,01	0,04 \pm 0,01	0,014	NS	NS
Color (Beretta)	19 \pm 8	25 \pm 12	21 \pm 10	NS	NS	NS
Cenizas totales	0,22 \pm 0,07	0,32 \pm 0,16	0,30 \pm 0,12	0,013	0,039	NS
Acidez libre	22 \pm 9	32 \pm 9	26 \pm 10	0,005	NS	NS

Relación entre el contenido de antioxidantes de la miel y la flora de origen.

Para evaluar la relación entre el contenido de antioxidantes y la flora de origen, se realizaron análisis de componentes principales utilizando las siete variables químicas: polifenoles, flavonoides, cenizas, CAR, color, acidez y proteínas ya que se vio que hay correlaciones entre ellas y la CAR (datos no mostrados).

En la **Figura 3** se muestran los resultados obtenidos mediante un sistema de ejes ortogonales que expresan las variables canónicas 1 y 2 (ejes x e y respectivamente). El análisis fue capaz de discriminar tres grupos de muestras.

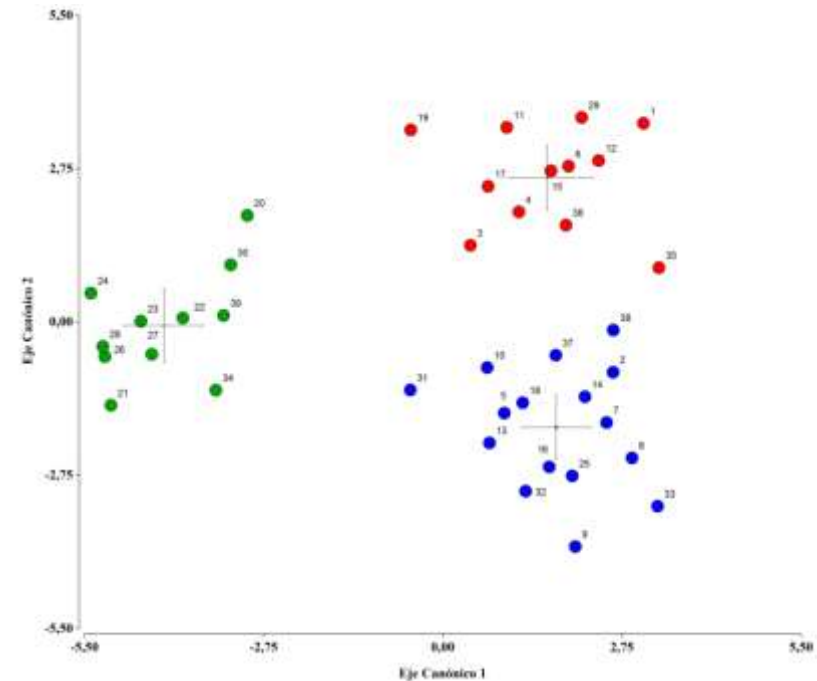


Figura 3: Componentes principales de las muestras según variables físico-químicas. Los tres grupos se señalan: 1- símbolos azules, 2- símbolos rojos y 3- símbolos verdes. Las cruces señalan la DE para ambas componentes principales.

El primer grupo (en azul) contuvo 16 muestras, el segundo grupo (en rojo en el gráfico) agrupó 12 muestras que se diferenciaron del grupo 1 por los valores de CP2. Por último el grupo 3 (en verde en el gráfico) agrupó 11 muestras en una zona menos reducida del espacio y con valores diferentes de CP1 y CP2 que el los otros dos grupos. La tasa de resultó inexistente, en total concordancia con el no solapamiento de los grupos (Figura 3). En la **Tabla 4** se muestran los coeficientes que el programa asignó a cada una de las variables para las dos componentes principales (CP1 y CP2).

Tabla 4: Coeficientes de las componentes principales 1 y 2.

	1	2
Polifenoles	-2,04	-0,25
Proteínas	-0,18	-0,80
Flavonoides	0,04	1,47
CAR	0,50	0,10
Color	-0,12	0,49
Cenizas	0,45	-0,85
Acidez	1,32	0,15

Para identificar cuáles fueron las características propias de los tres grupos discriminados según sus propiedades físico-químicas se hizo un prueba t para cada par de grupo (2 vs 1, 3 vs 1 y 3 vs 2). Los resultados se muestran en la tabla siguiente y muestra que el grupo 1 está formado por las mieles más pobres en polifenoles y flavonoides. El grupo con mayor cantidad de polifenoles fue el grupo 2; el grupo 3 fue el que presentó mayores niveles de flavonoides y acidez y el 1 fue el de mieles

más claras y con menor cantidad de polifenoles y flavonoides (**Tabla 5**).

Tabla 5: Variables químicas de los grupos discriminados (1, 2 y 3). Se muestran los promedios \pm la DE y los valores de p obtenidos de la prueba t de Student.* Grupo 1 vs. 2, ** Grupo 1 vs. 3, ***Grupo 2 vs. 3; NS: no significativo.

Grupo	1	2	3	p<*	p<**	p<***
Polifenoles	3,06 \pm 0,14	5,31 \pm 1,32	4,29 \pm 1,12	0,0001	0,02	0,05
Flavonoides	3,33 \pm 1,59	4,52 \pm 1,11	6,36 \pm 1,92	0,049	0,0001	0,005
CAR	0,027 \pm 0,006	0,034 \pm 0,01	0,034 \pm 0,01	0,049	0,041	
Proteínas	431 \pm 146	398 \pm 154	475 \pm 170			
Color	16,2 \pm 8,7	22,7 \pm 7,0	25,8 \pm 12,3	0,049	0,032	
Cenizas	0,20 \pm 0,11	0,28 \pm 0,10	0,31 \pm 0,13		0,033	
Acidez	19,6 \pm 7,8	24,5 \pm 8,4	33,7 \pm 8,0		0,0001	0,009

Correlación entre variables químicas y botánicas

Una vez efectuado este análisis, surgió la hipótesis de que habría relación entre las variables relacionadas a la capacidad antioxidante y el origen botánico y se procedió a analizarla. Primero se analizó si había especies botánicas diferentes en los

grupos 1, 2 y 3. La **Tabla 6** muestra que en 5 especies botánicas se observaron diferencias significativas.

Tabla 6: Taxones en los tres grupos de muestras según variables químicas. Se indican el promedio \pm DE y el resultado del test de Student (p). La significancia entre grupos se muestra como: * 1 vs. 2, ** 1 vs. 3, *** 2 vs. 3. NS: no significativo.

Grupo	1	2	3	p<*	p<**	p<***
<i>Prosopis</i> spp.	35 \pm 21	8 \pm 7	13 \pm 14	0,0001	0,005	NS
<i>Larrea</i> spp.	18 \pm 17	6 \pm 6	11 \pm 9	0,029	NS	NS
<i>Schinus</i> sp.	3 \pm 3	2 \pm 2	5 \pm 4	NS	0,081	0,008
<i>Mimosa</i> spp.	8 \pm 15	5 \pm 7	7 \pm 9	NS	NS	NS
<i>Cercidium praecox</i>	4 \pm 5	11 \pm 22	8 \pm 15	NS	NS	NS
<i>Baccharis</i> sp.	0,3 \pm 0,5	2,3 \pm 3,3	1,9 \pm 3,8	0,044	NS	NS
<i>Acacia</i> spp.	3 \pm 6	1 \pm 1	1 \pm 1	NS	NS	NS
<i>Aloysia grattissima</i>	1 \pm 1	2 \pm 3	4 \pm 5	NS	0,046	NS
<i>Capparis atamisquea</i>	1 \pm 2	1 \pm 2	2 \pm 3	NS	NS	NS
<i>Eucalyptus</i> sp.	1,5 \pm 2,4	0,3 \pm 0,7	1,1 \pm 1,6	NS	NS	NS
<i>Celtis erhembergiana</i>	0,4 \pm 0,8	1,5 \pm 1,9	0,3 \pm 1,0	0,070	NS	NS
<i>Parkinsonia aculeata</i>	1 \pm 2	3 \pm 6	5 \pm 14	NS	NS	NS
<i>Lycium ciliatum</i>	0,2 \pm 0,6	2,6 \pm 4,1	0,3 \pm 0,7	0,048	NS	0,093
<i>Gomphrena pulchella</i>	0,2 \pm 0,5	1,1 \pm 2,0	0,3 \pm 0,7	NS	NS	NS
<i>Geoffroea decorticans</i>	5 \pm 7	2 \pm 4	1 \pm 2	NS	0,091	NS
<i>Ziziphus mistol</i>	0,4 \pm 1,4	6,2 \pm 10,7	1,8 \pm 4,3	0,063	NS	NS

<i>Melilotus albus</i>	1 \pm 1	0 \pm 0	1 \pm 2	NS	NS	NS
<i>Schinopsis</i> sp.	0,0 \pm 0,0	10,3 \pm 26,4	0,3 \pm 0,9	NS	NS	NS
Asteraceae	0,1 \pm 0,2	1,1 \pm 1,8	0,4 \pm 1,4	0,060	NS	NS
<i>Brassica</i> sp.	1 \pm 1	0 \pm 0	1 \pm 1	NS	NS	NS
<i>Chenopodium</i> sp.	0,3 \pm 0,8	0,3 \pm 0,6	0,2 \pm 0,7	NS	NS	NS
<i>Senna aphylla</i>	2 \pm 5	4 \pm 11	1 \pm 3	NS	NS	NS
<i>Condalia microphylla</i>	1 \pm 3	2 \pm 3	0 \pm 0	NS	NS	0,057
<i>Citrus</i> spp.	2,2 \pm 7,6	0,2 \pm 0,6	5,8 \pm 15,8	NS	NS	NS
<i>Ammi visnaga</i>	0,4 \pm 0,8	0,1 \pm 0,4	0,6 \pm 1,4	NS	NS	NS
<i>Tournefortia lilo</i>	0 \pm 0	8 \pm 18	13 \pm 28	NS	NS	NS
<i>Hyptis mutabilis</i>	0,3 \pm 0,9	0,3 \pm 0,4	0,0 \pm 0,0	NS	NS	0,031

Se concluye que las mieles analizadas se pudieron agrupar en tres conjuntos distintos según el análisis se haya realizado teniendo en cuenta la zona fitogeográfica de procedencia o las variables químicas. El origen floral, como era de esperar, resultó totalmente coincidente con el geográfico, no así el análisis químico, ya que las muestras de los grupos discriminados por las variables químicas fueron coincidentes parcialmente con las de los grupos discriminados por zona de procedencia.

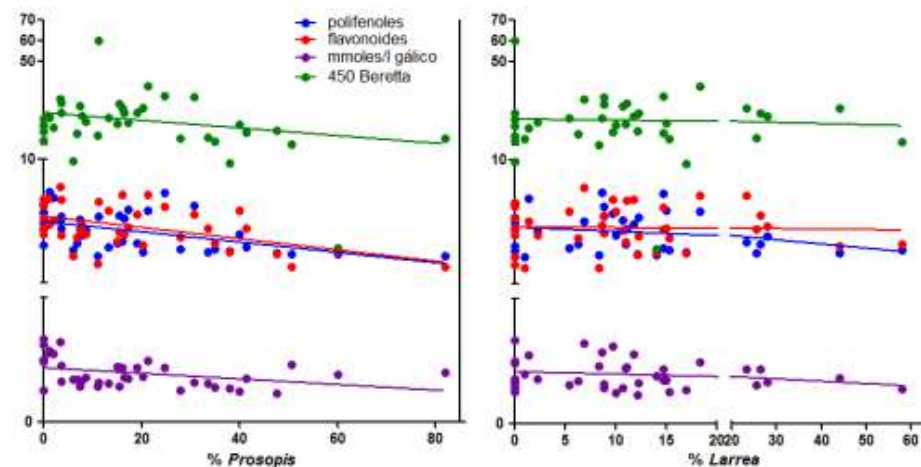
Habiendo detectado algunas diferencias botánicas entre los grupos se realizó un análisis de correlación entre las variables asociadas a la capacidad antioxidante (polifenoles, flavonoides y CAR) y el color, versus las 27 variables botánicas. Los resultados fueron muy interesantes: polifenoles mostró una fuerte correlación negativa con *Prosopis* ($p < 0,0001$), y positiva con *Cercidium* ($p < 0,01$); una relación más débil se observó para *Lycium ciliatum* ($p < 0,03$) y *Senna aphylla* ($p < 0,05$) y flavonoides

correlacionó negativamente con *Prosopis* ($p < 0,02$) y *Acacia* ($p < 0,05$), y positivamente con *Schinus* sp. y *Aloysia grattissima* correlacionó ($p < 0,01$ y $0,03$, respectivamente).

Tabla 7: Contribución de especies botánicas a la capacidad antioxidante. Se indican el promedio \pm DE de la pendiente obtenida de la correlación entre los niveles de polifenoles, flavonoides y CAR en función del porcentaje de la especie botánica en cada muestra. p de Student: * polifenoles, ** flavonoides, *** CAR.

Grupo	polifenoles	flavonoides	CAR	$p < *$	$p < **$	$p < **$
<i>Prosopis</i> spp.	$-6,2 \pm 1,7$	$-3,7 \pm 1,5$	-758 ± 313	0,0001	0,02	0,02
<i>Larrea</i> spp.	$-2,1 \pm 1,2$			0,10		
<i>Schinus</i> sp.		$0,7 \pm 0,3$	106 ± 58		0,01	0,08
<i>Cercidium praecox</i>	4 ± 1		696 ± 252	0,01		0,01
<i>Acacia</i> spp.	$-0,7 \pm 0,4$	$-0,6 \pm 0,3$		0,09	0,05	
<i>Aloysia grattissima</i>		$0,6 \pm 0,3$			0,03	
<i>Lycium ciliatum</i>	$0,6 \pm 0,3$			0,03		
<i>Geoffroea decorticans</i>			-214 ± 81			0,01
<i>Schinopsis</i> sp.			642 ± 254			0,02
Asteraceae			-40 ± 23			0,10
<i>Senna aphylla</i>	$1,4 \pm 0,7$			0,05		
<i>Condalia microphylla</i>			-68 ± 39			0,09

CAR mostró una fuerte correlación negativa con *Prosopis* ($p < 0,02$) y *Geoffroea decorticans* ($p < 0,01$) y tuvo fuerte correlación positiva con *Cercidium praecox* ($p < 0,01$) y *Schinopsis* sp. ($p < 0,02$). También se observaron otras correlaciones menos importantes (**Tabla 7**). Por último se analizó la correlación entre el color y el origen botánico. Se encontró que las mieles tenían menor intensidad de color cuando aumentaba el contenido de *Prosopis* ($p < 0,03$). Estos resultados se resumen en la **Figura 4**, donde se eligió un ejemplo de especie botánica que contribuyó negativamente a la capacidad antioxidante con los tres parámetros estudiados (*Prosopis* spp.), otra que no contribuyó con CAR ni flavonoides (*Larrea* spp.), otra que contribuyó con CAR ni flavonoides (*Cercidium praecox*) y una que contribuyó solamente con CAR (*Schinopsis* sp.).



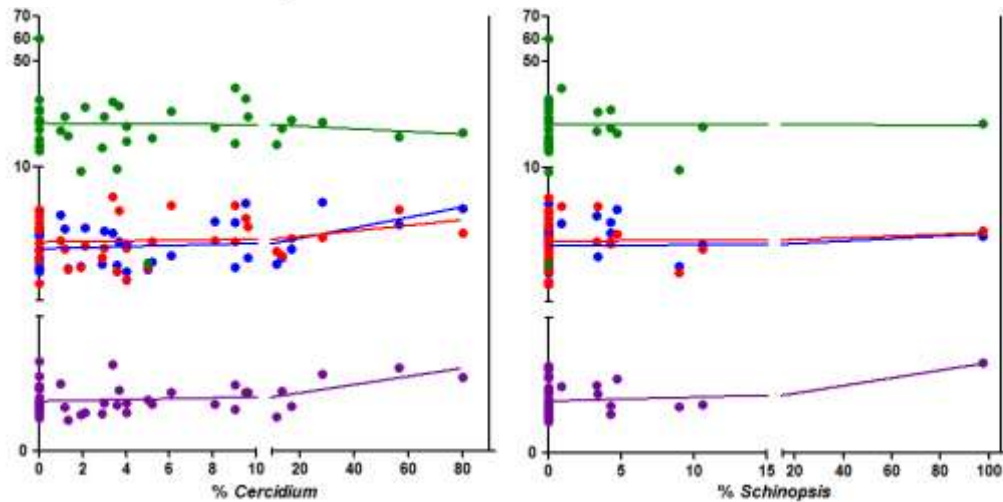


Figura 4: Correlaciones entre los niveles de polifenoles, flavonoides, capacidad antioxidante y color vs. porcentaje de abundancia de tipos polínicos de cuatro especies botánicas elegidas (*Prosopis*, *Larrea*, *Cercidium* y *Schinopsis*).

Estos resultados están de acuerdo con que el hecho de que el grupo 1 mostró menor capacidad antioxidante y menos color que los grupos 2 y 3 (**Tabla 5**), ya que este grupo se caracterizó por tener el mayor aporte de polen de *Prosopis* spp. y *Larrea divaricata*. Además, un mayor contenido de *Prosopis* estuvo asociado con un menor contenido de polifenoles, flavonoides, menos color y una menor CAR (**Figura 4**).

CONCLUSIONES

Las mieles de Catamarca mostraron preponderancia de flora nativa sobre la flora exótica, casi con exclusividad.

Los resultados sugieren que hay especies botánicas que contribuyen beneficiosamente a la capacidad antioxidante como el *Cercidium praecox* (brea) que mostró correlación positiva con el contenido de polifenoles y de CAR. *Schinopsis lorentzii* (quebracho) fue un caso particular ya que contribuyó a una mayor CAR sin mostrar correlación con los contenidos de polifenoles y flavonoides, sugiriendo que sería otra especie química la que contribuye a la CAR.

Estos hallazgos son importantes en dos sentidos, por una parte enfatizan la importancia de la flora nativa del bosque como recurso natural y sugieren ventajas de algunas especies para promover la reforestación con ellas ya que incidieron en la producción de mieles con mejor capacidad antioxidante, como *Cercidium* y *Shinopsis*. Por otra parte muestran que el concepto de calidad en mieles debería ser revisado. Los datos presentados en este trabajo son un comienzo para contribuir al valor agregado de las mieles de Catamarca, que suelen presentar características poco apreciadas por el consumidor: color oscuro, alto contenido de cenizas y alto índice de acidez. Interesantemente, estos parámetros resultaron estar fuertemente relacionados con una mayor capacidad antioxidante, poniendo de relieve que mieles con cierta desventaja en el mercado por estas características tienen una cualidad nutracéutica que puede ser puesta de relieve para mejorar el valor de mercado.

Tomando como referencia la experiencia adquirida con el estudio del origen botánico de la miel, resultaría interesante ampliar y profundizar el conocimiento de metabolitos secundarios con

propiedades bioactivas generados por las plantas y que se encuentran presentes en otros productos alimenticios artesanales de circulación regional en Argentina, ya que usan como materia prima para su elaboración, frutos de plantas nativas tales como el arrope, patay, dulces, jaleas, licores, añapa, chicha, etc. La continuidad de este enfoque permitiría una revalorización de este tipo de alimentos y además contribuiría a dar sustento científico al conocimiento popular existente, acerca de los beneficios a la salud que puede reportar el consumo de los mismos.

BIBLIOGRAFÍA

- Beretta, G., P. Granata, et al. 2005. Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 533(2): 185-191.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2): 248-254.
- Costa, M. C., V. A. Vergara-Roig, et al. 2013. A melissopalynological study of artisanal honey produced in Catamarca (Argentina). *Grana*, 52(3): 229-237.
- D'Arcy, B. R. 2005. Antioxidants in Australian floral honeys : Identification of health-enhancing nutrient components : a report for the Rural Industries Research and Development Corporation / by Bruce R. D'Arcy.

de Sá Otero, M. P., E. Díaz Losada, et al. 2011. Caracterización de mieles de obtención artesanal y comerciales producidas en Galicia (NO de España) a partir de su espectro polínico y contenido proteico. pag. 35.

Di Rienzo, J. A., F. Casanoves, et al. 2011. InfoStat.

Erdtman, G. 1960. The acetolysis method, a revised description. Svensk Botanisk Tidskrift 54: 561-564.

Feás, X., J. Pires, et al. 2010. Characterization of artisanal honey produced on the Northwest of Portugal by melissopalynological and physico-chemical data. Food and Chemical Toxicology, 48(12): 3462-3470.

Kaškonienė, V., A. Maruška, et al. 2009. Quantitative and qualitative determination of phenolic compounds in honey. Chemine Technologija, 52(3): 74-80.

Louveaux, J., A. Maurizio, et al. 1978. Methods of Melissopalynology International Comisión for Bee Botany of IUBS. Bee World 59(4): 139-157.

Quiroga, V., G. Luna, et al. (2008). Origen botánico y propiedades físicas y químicas de mieles primaverales de cinco localidades del Valle Central de Catamarca. Ciencia. Catamarca, Argentina. 3: 85-97.

Scheidegger, D., P. M. Radici, et al. 2013. Evaluation of milk powder quality by protein oxidative modifications. Journal of Dairy Science, 96(6): 3414-3423.

Zhishen, J., T. Mengcheng, et al. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chemistry, 64(4): 555-559.

AGRADECIMIENTOS

Los fondos necesarios para realizar este proyecto provinieron de: MinCyt Córdoba Res. N^o 113-2011 y SeCyT UNC código 05/C593 "Procesos oxidativos en matrices alimentarias complejas" y MinCyT Nación a través de un Proyecto Federal de Innovación Productiva 2007-2009 "Desarrollo y fortalecimiento de laboratorio para la determinación del origen botánico, caracterización física, química y microbiológica de miel producida en Catamarca".

CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y PROPIEDADES FUNCIONALES DE HARINAS DE FRUTOS DE GEOFFROEA DECORTICANS Y ZIZIPHUS MISTOL

Lescano N.E.¹, Villarreal M.E.¹, Samman N.C.²

1: Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos – Facultad de Agronomía y Agroindustrias – Universidad Nacional de Santiago del Estero, Argentina.

2: Facultad de Ingeniería-Universidad Nacional de Jujuy, Argentina.

mevilla4@gmail.com

Resumen: En el presente trabajo se determinó la composición de macro y micronutrientes y las propiedades funcionales de harinas de frutos de *Geoffroea decorticans* (chañar) y *Ziziphus mistol* (mistol). Las harinas se obtuvieron por molienda de los frutos sin endocarpio. Las determinaciones de macro y micronutrientes se realizaron conforme a las técnicas oficiales de la AOAC. Se determinó la capacidad de absorción de agua (CAA), la capacidad de retención de agua y de aceite (CRA y CRAC, respectivamente) y el poder de hinchamiento (H) de las harinas de chañar (HCh) y mistol (HM). Ambas harinas exhibieron un alto contenido de hidratos de carbono (65,02% y 76,15%, respectivamente) y de fibra dietaria total (24,61% y 12,75%, respectivamente) mientras que los contenidos de proteínas (4,02% y 5,07%), cenizas (4,33% y 3,96%) y lípidos (1,01% y 2,02%) fueron significativamente menores. Los contenidos de K, Na, Mg y Ca fueron importantes en HCh y HM. No se observaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en la CAA ($\approx 3 \text{ ml/g s.s.}$), la CRA

($\approx 2,2 \text{ g/g s.s.}$) y el H ($\approx 2 \text{ ml/g s.s.}$) entre las harinas, mientras que la CRAc de HCh fue de $1,52 \text{ g/g s.s.}$, siendo dos veces más alta que la de HM.

Palabras claves: *Geoffroea decorticans*, *Ziziphus mistol*, propiedades funcionales, macronutrientes, micronutrientes.

Abstract: In this paper, the composition of macro and micronutrients and functional properties of flours fruits *Geoffroea decorticans* (chañar) and *Ziziphus mistol* (mistol) was determined. The flours obtained by grinding the fruits without endocarp. Determinations of macro and micronutrients were performed according to official AOAC techniques. The water absorption capacity (CAA) was determined, the ability to retain water and oil (CRA and CRAc, respectively) and swelling power (H) of chañar (HCh) and mistol flour (HM). Both flours exhibited a high carbohydrate content (65.02% and 76.15%, respectively) and total dietary fiber (24.61% and 12.75% respectively) while protein content (4, 02% and 5.07%), ash (4.33% and 3.96%) and lipids (1.01% and 2.02%) were significantly lower. The contents of K, Na, Mg and Ca were important in HCh and HM. No significant differences ($P \leq 0.05$) in the CAA ($\approx 3 \text{ ml / g ss}$), CRA ($\approx 2.2 \text{ g/g ss}$) and H ($\approx 2 \text{ ml/g ss}$) between the fractions were observed, while the CRAc HC was 1.52 g/g ss with twice higher than HM.

Keywords: *Geoffroea decorticans*, *Ziziphus mistol*, functional properties, macronutrients, micronutrients.

INTRODUCCIÓN

El Gran Chaco Sudamericano es el segundo ecosistema del continente americano, después de la Amazonia, y una porción importante de su extensión (600.000km²) corresponde al Chaco-Argentino. Este ecosistema se encuentra inmerso en un severo proceso de degradación de sus recursos naturales debido a la tala indiscriminada de sus montes y a los cambios en el uso del suelo (Giménez *et al.* 2007), lo cual originó una drástica disminución de recursos alimentarios, forrajes, leña, colorantes, gomas y otros productos provenientes del mismo (Martella y Navarro 2006). Estos hechos tienden a agravar el cuadro nutricional de deficiencia alimentaria de la población rural y aborígen ya que se ven privados de alimentos silvestres para su consumo y el de los animales que crían. El aprovechamiento integral de leguminosas arbóreas, ampliamente difundidas en este ecosistema, puede ayudar a mitigar los problemas mencionados.

Los frutos de chañar (*Geoffroea decorticans*) y de mistol (*Ziziphus mistol*) fueron ancestralmente empleados por comunidades rurales y aborígenes por sus múltiples usos como recursos alimentarios, medicinales, tintóreos y como piensos para el ganado (Cardozo *et al.* 2011, Palacio *et al.* 2009, Maestri *et al.* 2001). Sin embargo, actualmente son frutos subutilizados, fuera de los periodos estivales de producción. Una alternativa para superar esta limitación es la producción de harinas para consumo humano y/o animal.

Maestri *et al.* (2001), informan que los frutos de chañar son una importante fuente de nutrientes, por el alto contenido de

azúcares del mesocarpio ($\approx 27\%$), el elevado contenido de lípidos y proteínas de sus semillas ($\approx 47\%$ y 26% , respectivamente) y por su buen aporte de fibra cruda ($\approx 15\%$). Costamagna *et al.* (2013) y Orrabalís *et al.* (2012), por su parte, informan acerca de los altos contenidos de azúcares, fibra y de otros compuestos fitoquímicos (carotenoides, ácido ascórbico y polifenoles) presentes en la harina de chañar, que la transforman en una potencial materia prima para la elaboración de alimentos.

En el mismo sentido, trabajos de Virginia *et al.* (2013), Cardozo *et al.* (2011), Martínez y Barbosa (2010) y Palacios *et al.* (2009) reportan las potenciales propiedades antimicrobianas y medicinales de los frutos y extractos de mistol, encontrándose, sin embargo, escasa información bibliográfica acerca de sus propiedades nutricionales.

Tomando en cuenta la información disponible y el creciente interés por encontrar nuevos productos vegetales comestibles de composición y propiedades funcionales promisorias es que se considera conveniente avanzar en el estudio de las harinas de estos frutos a fin de aportar información básica para sus posibles aplicaciones alimentarias. El objetivo del presente trabajo fue determinar la composición de macro y micronutrientes y las propiedades funcionales de harinas de frutos de *Geoffroea decorticans* (chañar) y *Ziziphus mistol* (mistol) a fin de relevar su potencial como ingrediente alimentario humano y animal, en el marco de un aprovechamiento sustentable del monte nativo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se emplearon frutos completos, seleccionados y limpios de *Geoffroea decorticans* (y *Ziziphus mistol*, recolectados en la

localidad de Guanaco Sombriana, Dpto. Atamisqui, Santiago del Estero.

Previo a la obtención de las harinas, los frutos fueron atemperados a temperatura ambiente, luego se secaron a 40 ± 2 °C en estufa de aire forzado (DALVO, DHR/F/I) a una velocidad de 2 m/s por un periodo de 72 h. Posteriormente, los frutos fueron molidos durante 90 s en un equipo de acción mecánica CROYDON a 2900 rpm. Luego se tamizó el producto de la molienda en un tamiz ASTM 8 (2380 μm) que separó la fracción constituida por el endocarpio y la semilla de la fracción que contiene el epicarpio y mesocarpio. Esta última fracción fue tamizada en un equipo zarandeador-vibrador ZONYTEST, JR 2000 provisto de un conjunto de tamices ASTM 18, 35, 45, 60, 80, 100, 120, 140 y 160. Las fracciones granulométricas, comprendidas entre los tamices de 35 ASTM (500 μm) y 80 ASTM (177 μm), obtenidas en mayor cantidad ($\approx 57\%$) fueron empleadas para realizar la determinación de macro y micronutrientes.

A las harinas de mistol (HM) y de chañar (HCh) se les determinó humedad, cenizas y lípidos conforme a las técnicas oficiales 27.3.06, 32.10.5 y 32.1.14 de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (1995), respectivamente. El contenido de fibra dietaria total, soluble e insoluble, y de proteínas (N x 6,25) se determinó por los métodos descritos por Prosky *et al.* (1994) y Hach *et al.* (1985). El contenido de hidratos de carbono se calculó por diferencia ($100 - \sum$ proteínas, cenizas, lípidos y fibra dietaria total).

El contenido de Ca y Mg de HM y HCh se determinó conforme a la técnica 973.52 de la AOAC (1995), mientras que los contenidos de Cu, Fe, Na y K se determinaron por espectrofotometría de

absorción atómica según el método descrito por De Santis Anunziata *et al.* (2008).

La capacidad de absorción de agua (CAA), la capacidad de retención de agua y de aceite (CRA y CRAc, respectivamente) de las harinas se determinaron conforme a las técnicas informadas por Vázquez Obando *et al.* (2009) y el poder de hinchamiento (H) por el procedimiento descrito por Robertson *et al.* (2000).

El análisis estadístico de los resultados se realizó a través del análisis de variancia de una sola vía (ANOVA) para un nivel de significancia, $p \leq 0,5$, usando el software INFOSTAT. La diferencia significativa entre medias se evaluó a través del test de comparaciones múltiples de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La **Tabla 1** muestra la composición proximal de las harinas de los frutos de mistol y chañar, sobre sólidos secos (ss). No se observan diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre los distintos componentes de la HM y HCh, a excepción de la fibra dietaria total.

Tabla 1: Composición proximal de harinas de *Geoffroea decorticans* y *Ziziphus mistol*⁽¹⁾

Parámetros	HM (g/100g harina) s.s.	HCh (g/100g harina) s.s.
Carbohidratos ⁽²⁾	76,15 \pm 0,28 (a)	65,02 \pm 0,25 (b)

Fibra dietaria total	12,75 ± 0,16 (a)	24,67 ± 0,01 (b)
Insoluble	11,80 ± 0,31 (a)	23,20 ± 0,01(b)
Soluble	0,95 ± 0,20 (a)	1,47 ± 0,01(b)
Cenizas	3,99 ± 0,10(a)	4,35 ± 0,13 (a)
Proteínas	5,08 ± 0,05(a)	4,94 ± 0,40(a)
Lípidos	2,01 ± 0,20(a)	1,01 ± 0,30(b)

⁽¹⁾ Valores medios de tres réplicas ± DS. Letras diferentes en la misma fila presentan diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre sus medias.

⁽²⁾ Los valores de carbohidratos se obtuvieron por diferencia.

En ambas harinas se observa un alto contenido de carbohidratos. Los contenidos de carbohidratos de la HCh fueron superiores a los informados por Costamagna *et al.* (2013) e inferiores a los reportados Orrabalis *et al.* (2012). Variaciones probablemente debidas a los diferentes procedimientos de molienda aplicados a los frutos.

Al igual que los frutos de otras leguminosas arbóreas del noroeste semiárido argentino, como es el caso de las vainas del género *Prosopis*, se observa un alto contenido de fibra dietaria total en las harinas (Cardozo *et al.* 2011, Freyre *et al.* 2010, Charpentier 1998, Zolfaghari *et al.* 1986). En las harinas de mistol y chañar se observó que aproximadamente el 90% de la fibra dietaria total correspondió a fibra dietaria insoluble. Esta es una característica diferencial de las harinas estudiadas, comparativamente con las harinas de *Prosopis* dado que en este último caso un importante porcentaje de la fibra dietaria total corresponde a fibra soluble, debido a la presencia de gomas (fundamentalmente galactomananos) (López-Franco *et al.* 2013).

Los valores de proteína de las harinas (≈ 5 g/100 g harina) son semejantes a los informados por Costamagna *et al.* (2013) para HCh, mientras que para las harinas de frutos de "algarroba" y "vinal" se informan contenidos de proteínas dos veces mayores a los que presentan chañar y mistol (Cardozo *et al.* 2011).

En síntesis, las harinas comestibles no tradicionales de frutos silvestres de las leguminosas arbóreas más difundidas en el Gran Chaco Sudamericano presentan altos contenidos de carbohidratos, fundamentalmente constituidos por azúcares, fibra dietaria total y menores contenidos de proteínas y lípidos.

La composición de minerales de las harinas de los frutos de chañar y mistol se detalla en la **Tabla 2**. Las harinas mostraron diferencias significativas entre ellas para todos los minerales estudiados.

Se observa en ambas harinas un alto contenido de potasio, significativamente mayor en HCh, valores similares a los informados (3000 mg/100 g harina) por Costamagna *et al.* (2013). La HM por su parte mostró mayores contenidos de Ca, Fe y Mg que la HCh y menores contenidos de Na.

Tabla 2: Composición de minerales de harinas de frutos de *Geoffroea decorticans* y *Ziziphus mistol*⁽¹⁾

Parámetros	HM (mg/100g harina)	HCh (mg/100g harina)
K	1477,3 ± 140 (a)	2064,6 ± 134 (b)
Na	195,8 ± 15 (a)	481,6 ± 90 (b)
Ca	241,8 ± 29,5 (a)	133,6 ± 21,2 (b)

Mg	268,7 ± 34,5 (a)	186,8 ± 51,8 (b)
Fe	27,3 ± 1,5 (a)	3,44 ± 1,2 (b)
Cu	3,7 ± 1,4 (a)	8,59 ± 2,9 (b)

⁽¹⁾Valores medios de tres réplicas ± DS. Letras diferentes en la misma fila presentan diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre sus medias

Se destaca que la HM y la HCh presentan contenidos de calcio doce y nueve veces más altos que los valores promedios (≈ 20 mg/100 g harina) de las harinas de los cereales comúnmente consumidos (De Santis Anunziata 2008). Resultados similares se observan para Mg y Fe (valores promedio aproximados en cereales 11 mg/100 g de harina para Mg y 2 mg/100 g harina para Fe).

Los resultados mostrados nos permiten sugerir que las harinas de mistol y chañar se pueden constituir en una fuente importante de minerales, especialmente de potasio, calcio, hierro y magnesio.

Los altos contenidos de fibra dietaria presentes en las harinas requieren que se profundice el estudio de sus propiedades funcionales a fin de determinar sus potenciales usos alimentarios y los posibles efectos benéficos sobre la salud. La **Tabla 3** muestra las propiedades funcionales de la HM y la HCh. Las propiedades estudiadas en ambas harinas no exhibieron diferencias significativas entre ellas, a excepción de la CRAC, a pesar que la HCh posee el doble de fibra dietaria total que la HM, esto podría asociarse a la estructura diferente de sus fracciones fibrosas.

Tabla 3: Propiedades funcionales de harinas de *Geoffroea decorticans* y *Ziziphus mistol*⁽¹⁾

Parámetros	HM	HCh
CAA (ml/g s.s)	2,90 ± 0,14 (a)	2,93 ± 0,21 (a)
CRAC (g/g s.s)	0,66 ± 0,23 (a)	1,52 ± 0,04 (b)
CRAg (g/g s.s)	2,26 ± 0,10 (a)	2,29 ± 0,05 (a)
H (ml/g s.s)	2,34 ± 0,04 (a)	2,33 ± 0,18 (a)

⁽¹⁾Valores medios de tres réplicas ± DS. Letras diferentes en la misma fila presentan diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre sus medias.

La HM y HCh exhibieron un CRAg equivalente a dos veces su peso. Estos valores son similares a los informados para cáscara de maíz y trigo, pero tres veces menores que el salvado de trigo y la mitad de las fibras de soja (Vásquez Obando *et al.* 2009). Esta capacidad de retener agua podría deberse a una alta proporción de hemicelulosa y lignina presentes en la fibra dietaria insoluble. En contraste con la CRAg, se observó en HM una baja capacidad de retener aceite, la mitad de la observada en HCh. Los valores obtenidos en HCh fueron ligeramente inferiores a los que presentan los residuos fibrosos de chia y cebada (2,32 g/g; 2,48 g/g) (Belén *et al.* 2004, Escalada Pla *et al.* 2007).

Los valores de poder de hinchamiento (H) de las harinas se encontraron en el orden de los 2 ml/g ss, valores ligeramente inferiores a los de fibras de usos comerciales (Valencia y Román 2006).

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo proporcionan información preliminar básica de las harinas de frutos silvestres sub-explotados de *Geoffroea decorticans* (chañar) y *Ziziphus mistol* (mistol). Los resultados obtenidos nos permiten afirmar, en principio, que las harinas de mistol y chañar pueden constituirse en potenciales fuentes de fibras naturales, carbohidratos y minerales, requiriéndose de mayores estudios para determinar su comportamiento en diferentes matrices alimentarias.

BIBLIOGRAFÍA

- Belén D, Alemán R, Alvarez F, Alvarez M. 2004. Evaluación de algunas propiedades funcionales y reológicas de harinas de coroba (*Jessena polycarpa* Karst). Revista de la Facultad de Agronomía (Venezuela) 21: 161-170.
- Cardozo M.L, Ordoñez RM, Alberto MR, Zampini IC, Isla MI. 2011. Antioxidant and anti-inflammatory activity characterization and genotoxicity evaluation of *Ziziphus mistol* ripe berries, exotic Argentinean fruit. Food Research International 44: 2063-2071.
- Charpentier M. 1998, Valores nutricionales de las plantas alimenticias silvestres del Norte Argentino. Instituto de Cultura Popular- Comisión Europea, Reconquista, Argentina. 91-93.
- Costamagna MS, Ordoñez RM, Zampini IC, Sayago JE, Isla MI. 2013. Nutritional and antioxidant properties of *Geoffroea decorticans*, an Argentinean fruit, and derived products (flour, arropé, decoction and hydroalcoholic beverage). Food Research International 54: 160-168.
- De Santis Anunziata LL. 2008. Determinación del perfil mineral para el etiquetado de alimentos de fabricación artesanal elaborados en tres Municipios del estado Mérida. Revista de la Facultad de Farmacia 50 (2): 9-15.
- Escalada Pla MF, Ponce NM, Stortz CA, Gerschenson LN, Rojas AM. 2007. Composition and functional properties of enriched fiber products obtained from pumpkin (*Curcubita moschata* Duchesne ex Poiret). LWT Journals of Food Science 40: 1176-1185.
- Freyre MR, Bernardi CMH, Baigorria CM, Rozycki VR, Piagentini AM, Presa M, Taher HA. 2010. Parámetros de interés nutricional

en vinal (*Prosopis ruscifolia*). Revista FAVE-Ciencias Agrarias 9 (1-2): 89-96.

Giménez AM, Hernández P, Gerez R, Rios NA. 2007. Diversidad vegetal en siete unidades demostrativas del Chaco semiárido argentinos. Madera y Bosques 13 (1): 61-78.

Hach CC, Brayton SV, Kopelove A. 1985. A powerful Kjeldahl nitrogen method using peroxy monosulfuric acid. Journal Agricultural of Food Chemistry 33: 1117-1123.

Helrich, K. 1995. Official Methods of Analysis Association of Official Analytical Chemists. Arlington, Virginia - USA.

López- Franco YL, Cervantes-Montaña CI, Martínez-Robinson KG, Lizardi-Mendoza J, Robles-Ozuna LE. 2013. Physicochemical characterization and functional properties of galactomannans from mesquite seeds (*prosopis* spp.). Food Hydrocolloids 30: 656-660.

Maestri DM, Fortunato RH, Greppi JA, Lamarque AL. 2001. Compositional studies of seeds and fruits from two varieties of *Geoffroea decorticans*. Journal of Food Composition and Analysis 14: 585-590.

Martella MB, Navarro JL. 2006. Proyecto Ñandú. Manejo de Rhea americana y R. pennata en la Argentina. In Bolkovic, M.L Ramadori, D. (Eds), Manejo de Fauna en la Argentina. Programas de Uso Sustentable. DFS-SAYDS, Buenos Aires, Argentina 39-50.

Martínez GJ, Barboza GE. 2010. Natural pharmacopoeia used in traditional Toba medicine for the treatment of parasitosis and skin disorders (Central Chaco, Argentina). Journal of Ethno pharmacology 132 (1): 86-100.

Orrabalís CJ, Gorostegui HA, Calandri E, Guzmán CA. 2012. Estudio sobre parámetros funcionales y contenido de glucosa en harinas obtenidas de fruto maduro de "chañar" de la zona

semiárida y árida de la provincia de formosa. II Jornadas en Investigación de Ingeniería del NEA y Países Limitrofes. Argentina Palacio MO, Carrizo EV, Contreras M. 2009. Wild plant uses by inhabitants of Abrita Grande and nearby localities (Santiago del Estero, Argentina). Biocell 33 (2): A135.

Proscky L, Asp N, Schweizer T, De Bries J, Zurda I., Lee S.G. 1994. Determination of insoluble and soluble dietary fiber in foods and foods producis. Collaborative Study. Journal Association of Oficial Analytical Chemists 77 (3): 690-694.

Robertson JA, de Monredon FD, Dysseleer P, Guillon F, Amado R, Francois TJ. 2000. Hydration properties of dietary fiber and resistant starch: a European Collaborative Study. Lebensm-Wiss. u Technol 33: 72-79.

Valencia FE, Román MO. 2006. Caracterización fisicoquímica y funcional de tres concentrados comerciales de fibra dietaria. VITAE, Recista de la Facultad de Química Farmacéutica 13 (2): 54-60.

Vásquez Ovando A, Rosado-Rubio G, Chel-Guerrero L, Betancur-Ancona D. 2009. Physicochemical properties of a fibrous fraction from chia (*Salvia hispanica* L.). LWT-Food Science and Technology 42: 169-173.

Virginia A, Albrecht C, Bustos PS, Ortega G, Eraso AJ, Albesa I. 2013. Nitrosylation: An adverse factor in uremic hemolytic síndrome. Antitoxin effect of *Ziziphus mistol* Griseb. Food and Chemical Toxicology 56:381-386.

Zolfaghari R, Harden M, Huffman L. 1986. Some physical and chemical properties of hone y mesquite pod (*Prosopis glandulosa*) and applications in food products. Cereal Chemistry 63 (2): 104-108.

AGRADECIMIENTOS

A los profesionales de la Dirección de Obras Sanitarias de Santiago del Estero por su excelente disposición para usar las instalaciones y el equipamiento del laboratorio para realizar las determinaciones de minerales.

RELACIÓN DE PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS DE SORGO CON SU APTITUD TECNOLÓGICA PARA EL POPEADO. PROPIEDADES NUTRICIONALES Y ANTIOXIDANTES DE MUESTRAS SELECTAS

Llopart E.E.^{1,2}, González R.J.¹ y Drago S.R.^{1,2}

1: Instituto de Tecnología de Alimentos – Facultad de Ingeniería Química – Universidad Nacional del Litoral, Santiago del Estero 2829, Santa Fe, Argentina.

2: CONICET

sdrago@fiq.unl.edu.ar

Resumen: Se estudió el desarrollo de alimentos o ingredientes de sorgo transformados por popeado. Para ello se caracterizaron físicoquímicamente 28 variedades de sorgo rojo (SR) y blanco (SB), se evaluó su aptitud tecnológica para el popeado y se determinó la composición nutricional y la capacidad antioxidante (CAO) en muestras selectas. Se observó que a mayor dureza del grano, mayor fue el volumen aparente del popeado y que el rendimiento se relacionó en forma inversa con el color. Las muestras selectas fueron popeadas a 250°C-18%H para SB y a 250°C-14%H para SR. Comparando harinas nativas y popeadas, se observó que no existió diferencia significativa para proteínas y grasa, pero las cenizas se redujeron 11% y 16% para SB y SR, respectivamente. Luego del popeado, la digestibilidad proteica aumentó 8% para el SB y 7% para el SR y la lisina disponible disminuyó 24% y 16% para SB y SR, respectivamente. El contenido de polifenoles totales disminuyó 25% en SB y 46% en SR. El ácido fítico se redujo por popeado un 18% para SB y 35%

para SR y la CAO disminuyó un 23% para el SB y 41% para SR. Las harinas integrales de sorgo popeado pueden considerarse una fuente importante de antioxidantes.

Palabras Clave: sorgo, popeado, antioxidantes.

Abstract: Developing of food or ingredients from sorghum by popping process was studied. For that, 28 varieties of red (SR) and white (SB) sorghum were physico-chemically characterized. Technological aptitude for popping was assessed and nutrient composition and antioxidant capacity (AOC) were determined in selected samples. It was observed that the higher grain hardness, the higher apparent volume was, and that performance was inversely related to the color. The selected samples were popping at 250 C-18%M for SB, and 250C-14 % M for SR. Comparing native and popping flours, no significant differences for protein and fat content were observed, but 11% and 16% of ash reduction for SB and SR were produced. After popping, protein digestibility increased 8% and 7% for SB and SR; available lysine decreased 24% and 16% for SB and SR. Total polyphenol content decreased 25% and 46% in SB and SR. Phytic acid was reduced by 18% and 35% for SB and SR; AOC decreased by 23% for SB and 41% for SR. Popping whole grain sorghum flours can be considered an important source of antioxidants.

Keywords: sorghum, popping, antioxidants.

INTRODUCCIÓN

Las recomendaciones dietéticas de la Estrategia Mundial dirigida a las poblaciones (CODEX 2006) sugieren el consumo de cereales integrales. El efecto beneficioso sobre la salud de los granos enteros se debe a la fibra, micronutrientes y fitoquímicos presentes en la capa exterior del grano y en el germen (Raninen *et al.* 2011), además de ser una fuente importante de antioxidantes (Miller *et al.* 2000). Estudios epidemiológicos sugieren que el consumo de cereales integrales, incluyendo el sorgo, disminuye la mortalidad por enfermedad cardiovascular, lo que probablemente está relacionado con sus propiedades antioxidantes (Kushi *et al.* 1999, Awika y Rooney 2004).

La incorporación de los granos enteros a la dieta se ve reducida por la falta de hábitos, inconvenientes por mayores tiempos de cocción y la escasa variedad de productos elaborados con ellos, debido a la dificultad de incorporarlos en los alimentos (Drago *et al.* 2010). Una posibilidad para incluir el sorgo en la dieta es transformarlo en productos expandidos a través del popeado. Este proceso implica la explosión del grano, con la consiguiente transformación del cereal, siendo un método tradicional, muy sencillo, económico y rápido (González *et al.* 2002). En el popeado, los granos están expuestos a altas temperaturas por tiempo corto (HTST) (Nath *et al.* 2007). Esto mejora el perfil nutricional, la vida útil al inactivar microorganismos no deseables y ciertos anti-nutrientes, añadiendo además sabor a los granos y por lo tanto, mejorando su aceptabilidad (Ghorpade *et al.* 1986, Sreerama *et al.* 2008).

Las condiciones óptimas para este proceso dependen del método de popeado utilizado y de las características de los granos (proporción del endospermo corneo y resistencia del pericarpio). Además, se sabe que algunas propiedades de los

granos pueden predecir e interpretar comportamientos en diferentes procesos, como ser: el peso hectolítrico, la flotación, la densidad del grano y la relación de molienda (De Dios *et al.* 1992, Salazar 2000), por lo que es importante definir aquellos parámetros que permitan distinguir variedades de sorgos aptas para el popeado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia Prima

Se evaluaron 28 híbridos, algunos donados por el Programa de Investigación de Sorgo de la empresa Pannar Semillas S.R.L. y otros de origen comercial.

Determinaciones Analíticas

Composición centesimal: se evaluó el contenido de proteínas, extracto etéreo, cenizas y humedad según metodología de la AACC (2000).

Polifenoles Totales: se extrajeron los compuestos fenólicos (PF libres y ligados) de acuerdo con Qiu, Liu, y Beta (2010) y el contenido de PF se determinó por la técnica de Folin-Ciocalteu (Singleton y col., 1999) usando una curva patrón de ácido gálico.

Propiedades físicas: se determinaron las siguientes propiedades:

-Peso hectólitro (PH): se empleó una balanza de peso hectólitro tipo Schlopper de cuarto litro, y al valor de peso obtenido se multiplicó por el factor 0.4 para expresar los resultados en kg/hL (Maxson *et al.* 1971).

-Relación de molienda: se molieron 50 g de muestra y luego se tamizaron. El material que quedó en el tamiz de 1 mm fue

considerado fracción gruesa (G) y el que atravesó el tamiz de 0.5 mm y quedó en el ciego fue la fracción fina (F). La relación de molienda fue calculada como: G/ F (De Dios *et al.* 1992).

-Porcentaje de flotación (PF): porcentaje de granos que flotan en tetracloruro de carbono (CL₄C) (Lepes *et al.* 1976).

-Densidad aparente (DA): se determinó por el desplazamiento de volumen en una probeta (Chandrashekar y Kirleis 1998, De Dios *et al.* 1992): $D \text{ (g/cm}^3\text{)} = \text{peso de semillas} / (\text{volumen final} - \text{volumen inicial})$

Proceso de popeado: Se utilizó un equipo de lecho fluidizado. Basado en ensayos previos realizados con híbridos de sorgo, se definieron las siguientes condiciones de popeado: 250°C de temperatura durante 1 minuto, a 14% y 18% de humedad. Se evaluaron los siguientes parámetros:

-Volumen Aparente de los granos de sorgo popeados (VA), fue calculado como:

$VA \text{ (cm}^3\text{/g)} = \text{Volumen explotado (cm}^3\text{)} / \text{Peso explotado (BS) (g)}$

-Rendimiento de popeado (R): fue calculado como: $R \text{ (\%)} = \text{Peso explotado (BS) (g)} / \text{Peso inicial (BS) (g)}$

Evaluaciones nutricionales: Sobre las harinas integrales nativa y precocidas por popeado selectas se realizaron las siguientes determinaciones:

-Composición centesimal: cenizas, proteínas, extracto etéreo y humedad según AACC (2000).

-Digestibilidad proteica: se utilizó la técnica *in vitro* propuesta por Rudloff y Lönnerdal (1992).

-Lisina disponible: se utilizó el método de Carpenter modificado por Booth (1971).

-Polifenoles Totales

-Ácido Fítico (AF): se empleó el método AOAC (1993).

-Determinación de la capacidad antioxidante (CAO): se determinó por el método de inhibición del radical catión ABTS+• propuesto por Cian *et al.* (2011).

Análisis Estadísticos

Todas las determinaciones se realizaron por duplicado, y se informaron los promedios correspondientes. Para la realización del análisis de variancia y para el análisis de componentes principales (PCA) se utilizó el software estadístico Statgraphics plus 3.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características fisicoquímicas de los híbridos de sorgo

Los resultados obtenidos para las características fisicoquímicas de los híbridos de sorgo analizados se presentan en la **Tabla 1**. Los valores de proteínas, extracto etéreo, cenizas y polifenoles se hallan dentro de los rangos publicados en la bibliografía (FAO 1995, Dicko *et al.* 2006). La composición química y el valor nutricional del sorgo pueden ser afectados por factores tales como el genotipo, el clima, tipo de suelo y fertilización (Ebadi *et al.* 2005). Para ambos tipos de sorgo, el contenido de PFLig. fue mayor que los PFL. En sorgos, los ácidos fenólicos se presentan en su mayoría en forma ligada (Awadelkareem *et al.* 2009). Respecto a los PFL, se observó que los SR presentaron mayor contenido, lo que genera que la testa sea más pigmentada (Waniska *et al.* 1989).

Tabla 1: Composición centesimal: proteínas, extracto etéreo y cenizas, polifenoles totales (PFT), polifenoles libres (PFL) y polifenoles ligados (PFLig.) de los híbridos de sorgo rojo (SR) y blanco (SB).

HIBRIDOS	Proteínas (g/ 100g)	Extracto Etéreo (g/ 100g)	Cenizas (g/ 100g)	PFT (mg AG/ 100 g)	PFL (mg AG/ 100g)	PFLig. (mg AG/ 100g)
SB1	11.9	3.1	1.7	689.1	110.6	578.4
SB2	11.1	3.1	1.8	664.9	112.7	552.2
SB3	9.9	3.3	1.5	674.4	106.6	567.7
SB4	11.4	3.0	1.6	697.6	103.0	594.5
SB5	11.1	3.0	1.5	669.9	101.8	567.2
SB6	10.7	3.0	1.3	676.2	112.7	563.5
SB7	9.8	3.1	1.5	517.4	108.7	408.7
SB8	10.4	2.9	1.2	949.7	171.2	778.5
SB9	9.8	2.7	1.2	595.5	118.6	476.9
SB10	10.7	3.4	1.3	665.6	101.3	564.2
SB11	8.5	2.8	1.2	1051.8	157.4	894.4
SB12	9.1	3.0	1.2	991.5	179.8	811.7
SB13	9.5	3.1	1.5	954.2	180.6	773.6
SB14	10.9	2.8	1.2	627.9	112.4	515.5
SR1	10.7	3.0	1.8	1131.9	189.5	942.4
SR2	10.1	2.8	1.5	739.1	131.5	607.6
SR3	11.8	3.0	1.2	1303.1	198.6	1104.5
SR4	11.0	3.0	1.1	1018.8	150.9	867.8
SR5	9.9	2.9	1.5	704.7	107.8	596.9
SR6	11.2	3.1	1.6	740.7	120.7	620.0
SR7	10.7	3.0	1.6	1605.6	201.3	1404.4

SR8	9.9	2.9	1.5	990.8	134.7	856.1
SR9	11.5	3.2	1.4	776.5	127.8	648.7
SR10	11.2	2.9	1.5	701.4	123.1	706.6
SR11	11.4	3.2	1.5	820.4	197.2	1224.2
SR12	9.1	3.0	2.0	829.7	123.1	706.6
SR13	11.1	3.0	1.5	1421.3	197.2	1224.2
SR14	11.0	3.0	1.7	1073.2	195.7	877.5

*En cada análisis se calculó el CV y fue menor a 5.

Las características físicas de los híbridos y los resultados de popeado se muestran en la **Tabla 2**. Se observó que la muestra de SB14 prácticamente no popeó, por tal motivo no se consideraron los datos físicos y de popeado de este híbrido para los análisis de componentes principales.

Tabla 2: Relación de molienda (RMOL), peso hectolítrico (PH), índice de flotación (%F), densidad aparente (DA), volumen aparente (VA) y rendimiento (R) luego del popeado a 250°C-14%H y a 250°C-18%H de los híbridos de sorgo.

HIBRIDOS	RMOL	PH (kg/hl)	%F (%)	DA (g/ml)	250°C 14 %H		250°C 18 %H	
					VA	R	VA	R
SB1	6.2	81.2	8.0	1.5	10.0	63.6	19.1	84.7
SB2	3.7	80.7	13.0	1.4	14.0	70.9	16.6	72.6
SB3	5.0	80.8	2.0	1.4	18.4	86.3	16.7	79.0
SB4	4.3	80.3	5.0	1.7	17.5	81.1	15.4	74.5
SB5	4.7	81.1	7.0	1.3	17.5	81.1	14.4	70.0
SB6	4.0	78.7	1.0	1.3	15.3	87.1	12.5	95.3
SB7	3.2	73.0	16.0	1.2	13.0	84.7	13.7	89.3

SB8	2.9	78.9	10.0	1.2	10.1	86.5	11.4	88.1
SB9	2.4	78.7	19.0	1.1	12.8	85.2	13.9	87.5
SB10	3.2	80.0	7.0	1.2	11.7	87.3	12.2	90.2
SB11	1.7	73.2	58.0	1.1	9.1	68.9	10.3	80.3
SB12	1.8	73.3	59.0	1.0	9.1	67.3	11.2	81.5
SB13	4.2	71.8	4.0	1.1	16.9	86.0	17.8	85.7
SR1	4.2	81.6	4.0	1.3	17.4	86.2	14.9	63.2
SR2	3.4	79.4	10.0	1.3	15.7	77.2	13.4	72.0
SR3	5.3	81.9	0.0	1.5	14.5	75.5	18.0	73.2
SR4	4.5	81.3	0.0	1.6	15.8	73.8	13.6	71.1
SR5	5.2	82.0	4.0	1.5	18.9	84.5	16.0	77.0
SR6	5.4	80.3	9.0	1.4	6.3	47.1	17.7	77.3
SR7	4.0	81.0	3.0	1.4	20.8	78.7	13.2	68.6
SR8	3.8	80.3	8.0	1.3	5.9	23.7	13.5	70.0
SR9	4.2	80.4	10.0	1.3	16.1	79.5	14.1	71.0
SR10	3.9	80.9	6.0	1.3	17.7	77.6	16.3	70.5
SR11	4.0	80.3	8.0	1.4	15.6	68.9	13.4	64.1
SR12	2.8	80.2	13.0	1.4	15.1	76.6	13.4	62.2
SR13	4.0	80.5	8.0	1.4	15.5	79.5	15.2	71.4
SR14	6.0	81.0	5.0	1.3	15.5	54.3	18.7	78.2

Los diferentes híbridos presentaron un promedio de 3.99 de RMOL. Estos valores son superiores a los informados por Montiel *et al.* (2011) para 14 híbridos de sorgo (RMOL: 2.0). Los granos con una mayor RMOL son más duros (ricos en endospermo vítreo) y producen un mayor tamaño de partícula respecto a los granos más blandos (Chandrashekar y Kirleis 1988). El valor promedio obtenido para DA (1.33 g/ml) fue similar al hallado por Montiel (1.31 g/ml). Respecto al PH, el promedio observado fue

de 79.37 kg/hl, valor mayor al publicado por Montiel (78.40 kg/hl). Esto está de acuerdo con lo esperado, ya que la dureza de los granos de sorgo determinada por la RMOL se relaciona directamente con DA y PH (Salinas *et al.* 1992). Los valores observados para %F variaron entre 0 y 59 %, mientras que Montiel *et al.* (2011) informaron un rango de 12 a 47%, y Jambunathan *et al.* (1992), de 40 a 100%. El porcentaje de granos de sorgo que flotan es menor cuando poseen altas proporciones de endospermo vítreo (Jambunathan *et al.* 1992), es decir que a menor flotación, más duros son los granos (Robutti, 1995). Los valores de VA y R obtenidos son acordes a los hallados por Viraktamath *et al.* (1972), que evaluaron la calidad de sorgos popeados y observaron que el volumen varió de 7.0 a 11.4 ml/g y el R varió de 21.0 a 74.6%.

Con el fin de estudiar la relación entre las propiedades fisicoquímicas de los granos y la capacidad de explotar, se realizó un análisis de componentes principales (PCA) con los resultados obtenidos a 250°C y 18 %H (**Figura 1**), ya que en esta condición se obtuvieron los mayores VA y R. Para incluir al color en los cálculos se asignó valores: SB=1 y SR=2.

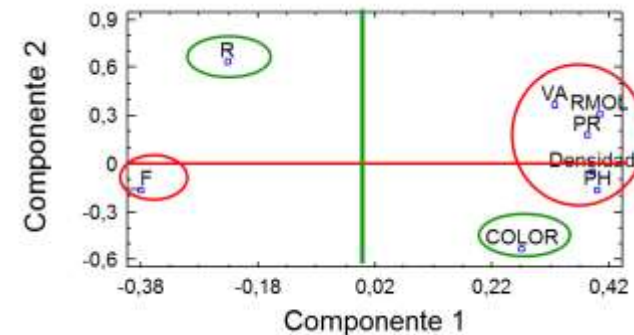


Figura 1: Pesos de los Componentes de las proteínas (Pr), color, relación de molienda (RMOL), peso hectolítrico (PH), índice de flotación (%F), densidad aparente (DA), volumen aparente (VA) y rendimiento (R) a 250°C-18%H de los híbrido de sorgo.

A través del PCA se determinó que con 2 componentes se puede explicar el 75% de los casos. En la **Figura 1** se observa que las propiedades RMOL, PH, DA, Pr y VA están representadas por la primera componente con relación directa y %F con relación inversa, manifestando su interacción opuesta con las características antes mencionadas, tal como fue observado para sorgo por Hallgren y Murty (1983). Se observa que mientras más duro es el grano, es decir mayor RMOL, PH y DA y menor %F, mayor será el VA del producto popeado. Observaciones similares fueron reportadas para sorgo (Thorat *et al.* 1988), maíz (Hoseney *et al.* 1983) y arroz (Murugesan y Bhattacharya 1991). Esto se debe a que el volumen que adquieren los granos explotados, además del contenido de agua óptimo, depende de la ruptura del pericarpio a cierta temperatura, cuando la presión dentro del núcleo es suficiente (Shimoni *et al.* 2002). El pericarpio genera una resistencia mecánica que permite mantener la alta presión en los granos, favoreciendo el aumento de volumen al estallar (Hoseney *et al.* 1983). Además, las Pr y RMOL están bien representadas y en forma directa por esta componente, es decir que al aumentar el contenido de Pr, más duros serán los granos y mejor VA alcanzarán al explotar, tal como fue observado para maíz (Soylu y Tekkanat 2007).

En el caso de la segunda componente se observa que representa en forma directa al R y en forma inversa al color (por ende al contenido de polifenoles), indicando que SB obtuvo los mayores rendimientos. No se observa relación entre R y VA, así como

también lo informaron Viraktamath *et al.* (1972) y Dofing *et al.* (1990).

Se considera que el volumen que adquieren los granos popeados ("palomitas") es el atributo más importante para el consumidor (Ziegler, 2001, Shimoni *et al.* 2002), por lo que ésta fue la característica que se consideró para seleccionar las muestras popeadas a analizar.

Propiedades nutricionales de muestras selectas de sorgo popeado

Las muestras elegidas en función del VA fueron, en el caso del SB el híbrido SB1 popeado a 250°C-18%H y para SR el híbrido SR7 popeado 250°C-14%H. En la **Tabla 3** se muestran los resultados del análisis de las harinas nativas y cocidas por popeado.

Respecto a la composición centesimal, el contenido de proteínas y extracto etéreo de las muestras nativas no difirió significativamente de las popeadas. Sin embargo, las cenizas se redujeron significativamente 11% y 16% para SB y SR, respectivamente. Este efecto también fue observado por Yenagi *et al.* (2005) y puede atribuirse a la pérdida de cáscara durante la explosión.

La digestibilidad proteica luego del popeado aumentó un 8% para el SB y 7% para el SR, en relación a sus muestras nativas, sin ser este aumento significativo estadísticamente. Otros investigadores observaron mejora de la digestibilidad proteica por popeado, que fue atribuida a que el estallido produce la fragmentación de las paredes celulares del endospermo vítreo y esto mejoraría la accesibilidad de las enzimas a las proteínas (Awadelkareem *et al.* 2009, Duodu *et al.* 2001). Además, se produjo una disminución de lisina disponible de 24% y 16% para

SB y SR, respectivamente, siendo significativa para el SB. Esto es de esperar debido a que la alta temperatura de popeado favorece la reacción de Maillard, tal como se observó para maíz popeado (Gupta *et al.* 1985).

La reducción de AF producida por el popeado fue de un 18% para SB y 35% para SR, siendo en este caso significativa. De forma similar Sreerama *et al.* (2008) observaron que el popeado redujo el contenido de AF en frijoles.

Tabla 3: Composición centesimal, digestibilidad proteica (%), lisina disponible, polifenoles libres (PFL) y ligados (PFLig.), Ácido Fítico (AF) y capacidad antioxidante (CAO) de harinas nativas y popeadas selectas de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR).

Muestras	SB integral nativo	SB integral popeado	SR integral nativo	SR integral popeado
Proteínas (g/100g)	11.89 ± 0.01	12.03 ± 0.08	10.69 ± 0.02	10.71 ± 0.05
Extracto etéreo (g/100g)	3.08 ± 0.10	2.98 ± 0.02	3.03 ± 0.09	2.93 ± 0.04
Cenizas (g/100g)	1.70 ± 0.01 ^b	1.53 ± 0.03 ^a	1.59 ± 0.01 ^b	1.34 ± 0.00 ^a
Digestibilidad Proteica (%)	90.21 ± 1.10	97.20 ± 3.95	81.69 ± 12.83	87.08 ± 2.31
Lisina Disp (mg/ g prot.)	4.68 ± 0.20 ^b	3.55 ± 0.04 ^a	4.88 ± 0.18	4.09 ± 0.21
PF Libres (mg AG/100g)	110.64 ± 8.63 ^b	60.30 ± 6.38 ^a	201.26 ± 3.19 ^b	72.52 ± 2.44 ^a
PF Ligados (mg AG/100g)	578.44 ± 14.70 ^b	459.46 ± 10.55 ^a	1404.38 ± 17.07 ^b	797.88 ± 2.13 ^a
AF (mg/100g)	836.57 ± 102.94	687.95 ± 16.65	1049.34 ± 38.85 ^b	682.40 ± 32.76 ^a
CAO (µmol TEAC/g)	39.42 ± 1.17 ^b	30.24 ± 1.81 ^a	55.65 ± 0.94 ^b	32.70 ± 0.70 ^a

X±SD, letras diferentes implican diferencias significativas según LSD (p <0,05) entre la muestra nativa y popeada correspondiente.

El contenido de PFL y PFLig se redujo significativamente luego del popeado, generando una reducción de los PFT; que en el caso del SB fue de un 25% (de 689 a 520 mg AG/g) y en el de SR de 46% (de 1606 a 870 mg AG/g). Este comportamiento también fue observado en frijoles popeados (Sreerama *et al.* 2008).

La CAO expresada como TEAC para las muestras nativas estuvieron en los rangos de valores observados por otros investigadores (Ragae *et al.* 2006, Dicko *et al.* 2006). Luego del proceso de popeado se observó una reducción estadísticamente significativa de la CAO de un 23% para el SB y 41% para SR. De forma similar, el popeado de amaranto redujo un 35% la CAO expresada como el contenido de tocoferoles (Ogrodowska, 2014).

La CAO se correlación directamente con el contenido de PFT (R= 0,9815). Los polifenoles son cuantitativamente el principal antioxidante de la dieta y poseen mayor capacidad antioxidante *in vitro* que las vitaminas y los carotenoides (Gardner *et al.* 2000, Manach *et al.* 2004). Es esperable que el descenso del contenido de PFT se refleje en forma proporcional en una reducción de la CAO, ya que los granos de sorgo muestran actividades antioxidantes altamente relacionadas con su contenido de compuestos fenólicos (Dicko *et al.* 2005).

El popeado produjo reducciones en los contenidos de PFT y AF y en la CAO. Este efecto puede deberse no sólo a las condiciones del proceso (humedad y temperatura), sino también a la pérdida de una parte de la cáscara durante el explotado del grano. Cabe destacar que en un estudio realizado con harinas integrales de SR precocidas por extrusión a 182°C y 14% H (Llopart *et al.* 2013)

y de SB en las mismas condiciones, también se produjeron reducciones en los contenidos de PFT y AF y en la CAO. Sin embargo, en comparación con las frutas y verduras, cuya CAO oscila entre 6-37 y 4,5-14 $\mu\text{mol TEAC/g}$ muestra, respectivamente (Miller *et al.* 2000), las harinas integrales de sorgo precocidas por popeado poseen una elevada capacidad antioxidante.

CONCLUSIONES

Del análisis fisicoquímico de 28 variedades de sorgos se observó que mientras más duro fue el grano (mayor RMOL, PH, DA y contenido proteico y menor %F) mayor fue el VA del popeado y que el R se relacionó en forma inversa con el color. El proceso de popeado no afectó significativamente a las proteínas y grasa, pero las cenizas se redujeron 11% y 16% para SB y SR en forma significativa. La digestibilidad proteica aumentó aunque no significativamente y la lisina disponible disminuyó 24% y 16% para SB y SR. Se generó una reducción del contenido de polifenoles, ácido fólico y antioxidantes, sin embargo, las harinas precocidas integrales obtenidas por popeado pueden considerarse una fuente importante de antioxidantes.

Este estudio brinda información que pone de manifiesto que es posible obtener un alimento expandido a partir de granos de sorgo de ciertas variedades, en condiciones apropiadas de popeado y además, se introduce un alimento novedoso que permite incrementar la oferta de productos de grano entero, con los beneficios que esto conlleva, a la vez de introducir un cereal que en Argentina no se consume tradicionalmente.

BIBLIOGRAFÍA

- AACC. 2000. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. Methods 38–12 and 46–13, 10th ed. St. Paul (MN): American Association of Cereal Chemists.
- AOAC. 1993. Method 931-01- methods of analysis for nutrition labelling. Ed. Sullivan DM, Carpenter DE. 26: 331–365.
- Awadelkareem AM, Muralikrishna G, El Tinay AH, Mustafa AI. 2009. Characterization of tannin and study of in vitro protein digestibility and mineral profile of Sudanese and Indian sorghum cultivars. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(4): 469–476.
- Awika JM, Rooney LW. 2004. Sorghum phytochemicals and their potential aspects on human health. *Phytochemistry*, 65: 1199–1221.
- Booth VH. 1971. Problems in the determination of FDNB-available lysine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 22: 658.
- Chandrashekar A, Kirleis AW. 1988. Influence of protein on starch gelatinization in sorghum. *Cereal Chemistry*, 65(6): 457–462.
- Cian RE, Luggren P, Drago SR. 2011. Effect of extrusion process on antioxidant and ACE inhibition properties from bovine haemoglobin concentrate hydrolysates incorporated into expanded maize products. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62(7): 774–780.
- CODEX. 2006. Solicitud de observaciones sobre el proyecto de plan de acción para la aplicación de la estrategia mundial sobre régimen alimentario, actividad física y salud, CL 2006/44-CAC, pág. 3.

- De Dios CA, Puig RC, Robutti JL. 1992. Tipificación de maíces por algunos caracteres de sus granos. Informe Técnico N° 265. Estación Experimental Agropecuaria. INTA Pergamino. pág. 12.
- Dicko MH, Gruppen H, Traoré AS, van Berkel WJH, Voragen AGJ. 2005. Evaluation of the effect of germination on content of phenolic compounds and antioxidant activities in sorghum varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 2581-2588.
- Dicko MH, Gruppen H, Traoré AS, Voragen AG, Van Berkel WJ. 2006. Review: Phenolic Compounds and Related Enzymes as Determinants of Sorghum for Food Use. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*, 1, 21-38.
- Dofing SM, Thomas-Compton MA, Buck JS. 1990. Genotype popping method interaction for expansion volume in popcorn. *Crop Science*, 30: 62-65.
- Drago S, Zuleta A, De Greef M, Torres R, González R, Chel Guerrero L, Betancur Ancona D. 2010. Disponibilidad de minerales de extrudidos elaborados con granos enteros de maíz y/o leguminosa (*Phaseolus vulgaris*). In: Utilización de recursos naturales tropicales para el desarrollo de alimentos. ed. DA. Betancur Ancona. LA. Chel Guerrero. AF. Castellanos Ruelas. pág. 208-223.
- Duodu KG, Tang H, Grant A, Wellner W, Belton PS, Taylor JRN. 2001. FTIR and solid state CNMR spectroscopy of proteins of wet-cooked and popped sorghum and maize. *Journal of Cereal Science*, 33: 261-269.
- Ebadi MR, Pourreza J, Jamalian J, Edris MA, Samie AH, Mirhadi SA. 2005. Amino acid content and availability in low medium and high tannin sorghum grain for poultry. *International Journal of Poultry Science*, 1: 27-31.
- FAO. 1995. El sorgo y el mijo en la nutrición humana. Colección FAO: Alimentación y nutrición. N° 27 Capítulo 4: Composición química y valor nutritivo.
- Gardner PT, White TAC, McPhail DB, Duthie GG. 2000. The relative contributions of vitamin, C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. *Food Chemistry*, 68: 471-474.
- Ghorpade VM, Kadam SS, Salunkhe DK. 1986. Thermal stability and changes in trypsin inhibitor during germination and cooking of horse gram. *Journal of Food Science and Technology*, 23: 164-165.
- González RJ, Torres RL, De Greef DM, Tosi E, Re E. 2002. Effects of popping and extrusion processes on amaranth hydration properties" Brazilian. *Journal of Chemical & Engineering*, 19(4): 391-395.
- Gupta HO, Chatterjee SR, Joginder Singh. 1985. Effect of popping and boiling on protein quality of maize (*Zea mays L.*) kernels. *Journal of Food Science and Technology*, 23: 59-60.
- Hallgren L, Murthy DS. 1983. A screening test for grain hardness in sorghum employing density grading in sodium nitrate solution. *Journal of Cereal Science*, 1 (4): 265- 274.
- Hoseney RC, Zeleznak K, Abdelrahman A. 1983. Mechanism of popping popcorn. *Journal of Cereal Science*, 1: 43-52.
- Jambunathan R, Kherdekar MS, Stenhouse JW. 1992. Sorghum grain hardness and its relationship to mold susceptibility and mold resistance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40: 1403-1408.
- Kushi LH, Meyer KA, Jacobs DR. 1999. Cereals, legumes, and chronic disease risk reduction: evidence from epidemiologic studies. *American Journal of Clinical Nutrition*, 70: 451S-458S.

- Lepes IT, Miotto RN, Cedro AVC, Rüegg OE. 1976. Test de flotación con maíces duros argentinos. En: Congreso Nacional de Maíz. Pergamino. Buenos Aires. IDIA, 32: 287-291.
- Llopart EE, Drago SR, De Greef DM, Torres RL, González RJ. 2013. Effects of extrusion conditions on physical and nutritional properties of extruded whole grain red sorghum (sorghum spp). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 65(1): 34-41.
- Manach C, Scalbert A, Morand C, Remesy C, Jimenez L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79: 727-747.
- Maxson ED, Fryar LD, Rooney LW Krishnaprasad MN. 1971. Milling properties of sorghum grain with different proportions of corneous to flourey endosperm. *Cereal Chemistry*, 48: 478-490.
- Miller HE, Rigelhof F, Marquart L, Prakash A, Kanter M. 2000. Antioxidant content of whole grain breakfast cereals, fruits and vegetables. *Journal of the American College of Nutrition*, 19(3): 312S-319S.
- Montiel MD, Elizalde JC, Santini F, Giorda L. 2011. Características físicas y químicas del grano de sorgo. Relación con la degradación ruminal en bovinos. *Arch. Zootec*, 60: 533-541.
- Murugesan G, Bhattacharya KR. 1991. Basis for varietal differences in popping expansion of rice. *Journal of Cereal Science*, 13: 71-83.
- Nath A, Chattopadhyay PK, Majumdar GC. 2007. High temperature short time air puffed ready-to-eat (RTE) potato snacks: process parameter optimization. *Journal of Food Engineering*, 80(3): 770-780.
- Ogrodowska D, Zadernowski R, Czaplicki S, Derewiaka D, Wronowska B. 2014. Amaranth Seeds and Products—The Source of Bioactive Compounds. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*.
- Qiu Y, Liu Q, Beta T. 2010. Antioxidant properties of commercial wild rice and analysis of soluble and insoluble phenolic acids. *Food Chemistry*, 121: 140-147
- Ragaei S, Abdel-Aal ESM, Noaman M. 2006. Antioxidant activity and nutrient composition of selected cereals for food use. *Food Chemistry*, 98(1): 32-38.
- Raninen K, Lappi J, Mykkänen H, Poutanen K. 2011. Dietary fiber type reflects physiological functionality: comparison of grain fiber, inulin, and polydextrose. *Nutrition reviews*, 69(1): 9-21.
- Robutti JL. 1995. Maize Kernel Hardness Estimation in Breeding by Near-Infrared Transmission Analysis. *Cereal Chemistry*, 72(6): 632-636.
- Rudloff S, Lönnerdal B. 1992. Solubility y digestibility of milk proteins in infant formulas exposed to different heat treatments. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 15: 25-33.
- Salazar. ZA. 2000. Calidad industrial del trigo para su comercialización. In: el trigo de temporal en México. Villaseñor. M. E. y Espitia. R. E. ed. Campo Experimental Valle de México. INIFAP. Chapingo. Estado de México. pág. 313.
- Shimoni E, Dirks EM, Labuza TP. 2002. The Relation Between Final Popped Volume of Popcorn and Thermal-Physical Parameters. *LWT-Food Science and Technology*, 35(1), 93-98.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of the Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- Soylu S, Tekkanat A. 2007. Interactions amongst kernel properties and expansion volume in various popcorn genotypes. *Journal of Food Engineering*, 80 (1): 336-341.

Sreerama YN, Sasikala VB, Pratape VM. 2008. Nutritional implications and flour functionality of popped/expanded horse gram. *Food chemistry*, 108(3), 891-899.

Thorat SS, Satwadhar PN, Kulkarni DN, Choudhari SD, Ingle UM. 1988. Effect of various grain parameters on popping quality of sorghum. *Journal of Food Science and Technology*, 25(6): 361-363.

Viraktamath CS, Raghavendra G, Desikachar HSR. 1972. Varietal differences in chemical composition, physical properties and culinary qualities of some recently developed sorghum strains. *Journal of Food Science and Technology*, 9(6): 73-76.

Waniska RD, JH Poe, Bandyopadhyay. 1989. Effects of growth conditions on grain molding and phenols in sorghum caryopsis. *Journal of Cereal Science*, 10: 217-225.

Yenagi NB, Kachapur MD, Bhuvaneshwari G. 2005. Popping quality and proximate composition of pop sorghum cultivars. *Research Highlights, JADU*, 15: 119-124.

Ziegler KE. 2001. Popcorn. In: Hallauer, A. ed., *Specialty Corn*. CRC Press, Boca Raton, FL. pág. 199-234.

AGRADECIMIENTOS

Financiado parcialmente por PICT 1105 y CAI+D 2011 PI 0367.

PANES RICOS EN PROTEÍNAS CON GOMA BREA ADICIONADA: RELACIÓN ENTRE ACEPTABILIDAD Y PARÁMETROS FISCOQUÍMICOS

López E.P.¹, Goldner M.C.¹

1: INIQUI - CONICET, Universidad Nacional de Salta, Av. Bolivia 5150, Salta Capital, Salta, Argentina.
epl_81@yahoo.com.ar
estelapatricialopez@gmail.com

Resumen: Objetivo: estudiar las relaciones entre la aceptabilidad, parámetros fisicoquímicos y composición química de panes ricos en proteínas con goma brea (GB) adicionada, utilizando análisis de componentes principales. Los panes elaborados fueron: harina de trigo:aislado proteico de Tarwi (HT:AT)-90:10 y harina de trigo:harina de arvejas (HT:HA)-80:20, con y sin adición de GB (0,5% p/p de mezcla), analizados a las 2, 24, 48 y 72 hs. Para los panes HT:AT-90:10: el porcentaje de la varianza explicada por los dos componentes principales fue 82,9%; la mayor aceptabilidad estuvo relacionada a mayor humedad, elasticidad y luminosidad (L*) de los panes sin GB frescos y con 24 h, y a los panes con GB frescos y a 24 y 48 h. En los panes HT:HA-80:20, el porcentaje de la varianza explicado fue 82,1%; la mayor aceptabilidad se relacionó a las muestras sin GB frescas y con 24 h y a aquellas con GB a iguales tiempos, ya que presentaron mayor humedad, adhesividad, cohesividad, elasticidad y luminosidad. Composición química: los panes con AT mostraron menor aceptabilidad, ligada al mayor contenido proteico, mientras que los panes más aceptados fueron los ricos

en carbohidratos y grasas (HT:HA y HT 100%). Conclusión: La GB incrementó la aceptabilidad de los panes HA:AT, no ocurriendo esto en los panes HT:HA.

Palabras clave: Goma Brea, Tarwi, Arveja, Pan, PCA.

Abstract: The aim of this study was to investigate the relationship between acceptability, physicochemical parameters and chemical composition and of two types of high protein breads, added with brea gum (GB), using principal component analysis. The two types of breads were made from the mix of wheat flour: lupin protein isolated (HT: AT)-90:10 and wheat flour: pea flour (HT: HA) -80: 20, each with and without addition of GB (0.5% w / w mixture). Moreover, each loaf was analyzed at 2, 24, 48 and 72 hours. Breads HT: AT-90: 10: the percentage of variance explained by the two principal components was 82.9%: the greater acceptability was related to increased moisture, springiness and luminosity (L*) observed in fresh and 24hs breads without GB, and fresh, 24 h and 48hs breads with added GB. In HT: HA-80: 20 breads, the percentage of variance explained was 82.1%: the greater acceptability was related to fresh and 24hs samples without GB, and those with hydrocolloid at equal storage times, because they had a higher moisture , adhesiveness, cohesiveness, elasticity and luminosity. Chemical composition: AT breads showed lower acceptability, linked to higher protein content, while the loaves with more acceptability were those rich in carbohydrates and fats (HT: HA and HT 100%). Conclusion: GB increased the acceptability of storage HT:AT breads, not this happening in HT:HA breads

Keywords: Brea gum, lupine protein isolate; pea flour, bread, PCA.

INTRODUCCIÓN

El Tarwi, lupino o chocho es una valiosa y ancestral leguminosa que crece en diferentes suelos y climas. En América, es un cultivo propio del altiplano de la puna, que fue relegado tras la colonización española. El mayor interés del Tarwi para la alimentación reside en su alto contenido en proteínas, las cuales son consideradas como una buena fuente de lisina y, en general, pobres en aminoácidos azufrados (Lampart -Szczapa, 1996; El-Adawy *et al.*, 2001). El pan es un producto alimenticio altamente demandado, lo que lo convierte en un alimento al que los consumidores están muy habituados.

La aceptabilidad se puede definir como la aceptación de un alimento por parte de las personas, como adecuado para comer, basada en una variedad de factores sensoriales, culturales, y emocionales (Gámbaro *et al.*, 2004). Por lo cual, la aceptabilidad es tan variable como cada individuo. Pero es justamente esa variabilidad la que convierte al consumidor en el mejor juez sensorial, dado que es él quien finalmente define la calidad de un alimento y si el producto cubre o no sus expectativas y necesidades.

Dentro de estas expectativas y necesidades que se resumen en la calidad que el consumidor le asigne a un alimento, pueden incluirse factores tales como los organolépticos (sabor, apariencia, aroma, textura, etc.), nutricionales (aporte de proteínas, de fibras o compuestos bioactivos) e incluso económicos.

El envejecimiento del pan es la causa de importantes pérdidas económicas a nivel industrial y también para los consumidores

(Giménez *et al.*, 2007), por lo que se buscan constantemente nuevas alternativas que permitan extender la vida útil de este noble producto. Por ello, la goma brea (GB), hidrocoloide obtenido del exudado del árbol *Cercidium praecox*, especie nativa del Chaco Salteño, puede constituir una opción novedosa como aditivo para la industria panadera. Químicamente, presenta características muy similares a la goma arábiga, pudiendo reemplazarla en la formulación de algunos productos alimentarios (Bertuzzi *et al.*, 2012; De Pinto *et al.*, 1996), con las consecuentes disminuciones en el costo, dadas por la importación de la goma arábiga, y el beneficio económico, social y ambiental que implica la producción, recolección, acopio y expendio de la GB.

Como es sabido, la incorporación de un aditivo a la formulación de un alimento, incide directamente en sus características físicas y su composición química, pudiendo o no, afectar la aceptabilidad. En el caso del pan, el envejecimiento, traducido en los cambios en la textura de la miga, es una falla del producto, que cuando ocurre y el consumidor la detecta, pone fin a la vida útil del producto. Por ello, la adición de GB podría afectar positivamente la textura y humedad de la miga del pan, condicionando así su aceptabilidad en el tiempo. Por estas razones, el objetivo de este trabajo fue estudiar las relaciones entre la aceptabilidad, parámetros fisicoquímicos y composición química de panes ricos en proteínas con goma brea (GB) adicionada. En esta investigación, se analizaron las relaciones entre la aceptabilidad y los parámetros instrumentales utilizando un análisis de componentes principales (PCA).

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Se trabajó con harina de trigo (HT) comercial 0000 (Humedad: 10 g/100 g; Proteína: 11,79 g/100 g; Cenizas: 0,71 g/100 g), harina de arvejas (HA) formulada en el laboratorio a partir de *Pisum sativum* (granulometría: 80Mesh, Humedad:10,8 g/100 g; Proteína: 21,70 g/100 g; Cenizas: 3,45 g/100 g; Grasas:0,15 g/100 g) y aislado de proteínas de Tarwi (AT) (granulometría: 80 Mesh, Humedad: 3,20 g/100 g, Cenizas: 0,80 g/100 g, Proteínas: 90,3 g/100g).

Las mezclas utilizadas fueron: HT:AT -90:10 y HT:HA – 80:20, las que posteriormente se adicionaron con un 0,5% p/p de mezcla, de goma brea purificada.

Se decidió trabajar con las mezclas HT:AT-90:10 y HT:HA-80:20, dado que fueron las de mejor calidad proteica (estimada por score químico corregido por digestibilidad) y cuya obtención fue más eficiente. La proporción de GB correspondió a la propuesta por López (2014).

Determinaciones

Se elaboraron los cuatro tipos de panes con las mezclas antes descriptas (HT:AT-90:10; HT:AT-90:10+GB; HT:HA-80:20; HT:HA-80:20+GB), en un horno eléctrico de pan marca Atma Easy Cook HP813, el cual permitió estandarizar los tiempos y temperaturas del proceso.

El procedimiento corresponde al de panificación por método directo y responde a los siguientes parámetros: Primer amasado: 10 minutos; Primera fermentación: 20 minutos, 27 °C; Segundo amasado (desgasificación): 15 minutos; Segunda fermentación:

75 minutos, 27 °C; Horneado: 60 minutos, 150 °C; Tiempo total del proceso: 180 minutos.

Los ingredientes se agregaron en el molde antiadherente respetando siempre el mismo orden de incorporación y en las siguientes proporciones: Levadura seca: 1,6% p/p de mezcla; Sal: 2% p/p de mezcla; Agua: de acuerdo a la absorción de agua farinográfica (dato no mostrado).

Cada tipo de pan se elaboró por triplicado y se conservó sin envasar, para su posterior análisis durante 2 (fresco), 24, 48 y 72 horas, a 21±1 °C y 70 % de humedad relativa.

Características fisicoquímicas de los panes frescos y almacenados

En los panes frescos y almacenados, con y sin la adición de GB, se evaluó la humedad de la miga (Método 925.10- AOAC, 1995), perfil de textura (TPA, test de doble compresión, texturómetro QTS 25, Brookfield) y color, en un colorímetro Cole-Parmer, utilizando los parámetros CIELAB (L*, a*, b*).

Composición química y lisina disponible

La composición química (expresada en g/100g) se analizó según los métodos propuestos por la AOAC (1995) (proteínas y grasas totales: Métodos 991.20 y 922.06 respectivamente). Los carbohidratos totales se determinaron por diferencia.

También se calculó lisina disponible (LD) (gLD/16gN) de acuerdo al método de Booth (1971). Las determinaciones se aplicaron sólo a los panes frescos.

Debe destacarse que estas determinaciones también se realizaron en un pan 100% HT tomado como control.

Todos los análisis se realizaron por triplicado.

Aceptabilidad

Se evaluaron dieciseis muestras (dos mezclas, cada una con y sin GB, a cuatro tiempos de almacenamiento) y se trabajó con un panel de 303 consumidores habituales de pan, (63% mujeres, 37% varones, de entre 18 y 40 años) a quienes se les presentaron las muestras antes descritas para su evaluación. Para lograr la valoración de las 16 muestras, se necesitaron cuatro sesiones. En cada sesión, se le presentó a cada consumidor una bandeja con cuatro muestras, codificadas con números de tres dígitos seleccionados al azar, ordenadas aleatoriamente para evitar errores por expectativa. Junto con la bandeja se les presentó un formulario para la evaluación, el cual contó con una escala hedónica de 9 puntos, siendo el 1 = "me desagrada muchísimo" y el 9 = "me agrada muchísimo".

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se empleó ANOVA; las diferencias entre las medias se analizaron a través de prueba de Tukey, considerándolas significativas cuando $p < 0,05$.

El análisis de componentes principales (PCA) se aplicó a los valores medios de la TPA, la aceptabilidad, la humedad y el color de las muestras de pan con el fin de integrar todos los datos instrumentales y sensoriales. Se utilizó matriz de correlación y el mínimo auto-valor se fijó en 1. Para PCA, se utilizó un análisis de regresión multivariado. Se utilizaron los programas Excel e InfoStat v.2012p®.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La **Figura 1** esquematiza la variación de la humedad (a) y la dureza (b) de las migas a lo largo del almacenamiento.

La humedad (**Figura 1 A**) fue significativamente mayor ($p < 0,05$) en las formulaciones añadidas con el hidrocoloide, lo cual se debió a la mayor cantidad de agua necesaria para alcanzar las 500UB en el estudio farinográfico (datos no mostrados), ya que los hidrocoloides son polisacáridos con gran afinidad por el agua (Rosell *et al.*, 2001).

Además, se evidenció que el agregado de la goma, actúa en la miga reteniendo la humedad de la misma por más tiempo, dado que la disminución en este valor fue significativamente menor ($p < 0,05$) en las migas con GB que en aquellas sin su adición. Este comportamiento fue particularmente marcado en los panes con HT:AT hasta las 48 hs de almacenamiento.

La dureza (H) se define como la fuerza máxima obtenida durante la primera compresión del ensayo (imitando el primer mordisco). Como lo muestra la **Figura 1 B**, la dureza de las migas fue incrementándose conforme pasaron las horas de almacenamiento. Las migas frescas de los panes HT:HA fueron las más tiernas ($p < 0,05$) y el agregado del hidrocoloide incrementó significativamente la dureza inicial, lo cual puede explicarse por un efecto espesante o de engrosamiento de las paredes que rodean los espacios de aire de la miga, tal como lo propusieron Guarda *et al.* (2004) y Rosell *et al.* (2001) para la goma xántica. En las migas de los panes HT:AT se observó un comportamiento similar, pero no fue estadísticamente significativo

A las 24 horas de almacenamiento (**Figura 1 B**), las migas del pan HT:HA+GB fueron las de menor dureza, y esta diferencia resultó significativa ($p < 0,05$) respecto a las migas de los panes

HT:HA, HT:AT y HT:AT+GB, destacándose que las migas de estos tres tipos de panes, resultaron en valores de dureza muy similares. A las 48 horas de almacenamiento, las migas de los panes HT:AT+GB resultaron significativamente menos duras que las sin GB, lo que puede explicarse por el mayor contenido de humedad de las migas (**Figura 1 A**). En las migas de los panes de HT:HA, la dureza no fue diferente al adicionar GB. A las 72 horas, las migas adicionadas con GB fueron significativamente menos duras ($p < 0,05$) que las no adicionadas, efecto que fue más marcado en el caso de la miga del pan HT:HA.

Entre las 2 y 48 horas de almacenamiento, las migas de los panes con AT fueron siempre más duras que las de HA, lo cual podría explicarse por la mayor tenacidad observada en las masas elaboradas con AT (dato no mostrado), dada por un posible efecto de "fortalecimiento" de la red de gluten causado por la oclusión de las proteínas de Tarwi dentro de dicha red (Paraskevopoulou *et al.*, 2010).

En la **Tabla 1** y **Figura 2** se resumen los demás resultados derivados del TPA.

La cohesividad (**Tabla 1**) se define como el cociente entre el trabajo hecho durante la segunda compresión dividido por el trabajo hecho durante la primera compresión. El resultado obtenido es un indicador de la visco-elasticidad del alimento.

Un valor próximo a 1 indica total elasticidad y un valor próximo a cero indica que la muestra no se recuperó en absoluto. Bajo esta definición, se pudo observar que las migas de pan presentaron valores superiores a 0,5, por lo que fueron más elásticas que viscosas.

A medida que envejecen, las migas fueron perdiendo cohesividad, es decir, disminuyeron la capacidad de mantenerse unidas. Este comportamiento era esperable, dado que la pérdida

gradual de humedad es la responsable de este resultado. No se observó ningún cambio en la cohesividad derivado de la adición de GB.

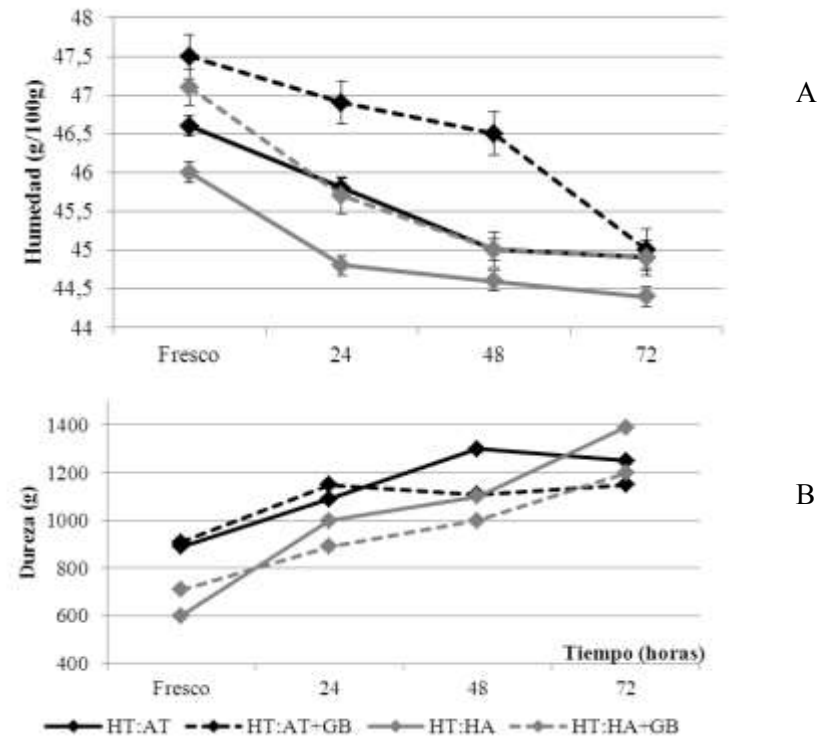


Figura 1: Variación de la humedad (a) y la dureza (b) de las migas a lo largo del almacenamiento. HT:AT: mezcla de harina de trigo y aislado proteico de tarwi (90:10); HT:AT+GB: mezcla de harina de trigo y aislado proteico de tarwi (90:10) con goma brea (0,5%); HT:HA: mezcla de harina de trigo y harina de arvejas

(80:20); HT:HA+GB: mezcla de harina de trigo y harina de arvejas (80:20) con goma brea (0,5%)

La adhesividad (**Tabla 1**) es definida como el trabajo o energía requerida para despegar completamente el accesorio de la muestra, o despegar la muestra de una superficie. En el presente estudio, las muestras no evidenciaron diferencias significativas para el parámetro adhesividad, por lo que tampoco se observaron cambios en esta variable derivados de la adición de la goma.

La gomosidad (**Tabla 1**) simula la energía requerida para desintegrar un alimento semi-sólido para así este se pueda tragar. El alimento es colocado en la boca y movido entre la lengua y el paladar: el grado de gomosidad se evalúa por la cantidad de movimiento requerido antes de que el alimento se desintegre. Para calcular este parámetro se realizó un producto entre los valores de dureza y cohesividad.

Las migas de los panes HT:AT fueron significativamente más gomosas que las del pan HT:HA y la gomosidad se mantuvo en el tiempo de almacenamiento. El pan HT:AT+GB fresco fue significativamente más gomoso que el HT:AT fresco, lo cual se debió a la mayor dureza de esas migas.

Con el pan HT:HA, ocurrió un efecto opuesto, dado que la gomosidad se incrementó con el tiempo: la gomosidad inicial fue significativamente menor ($p < 0,05$) que la de los panes con AT, pero resultó mucho más elevada a las 72 horas, en particular en la muestra HT:HA, lo cual se explicaría por la mayor dureza de esta miga en dicho periodo de tiempo. La miga fresca del pan HT:HA+GB fue significativamente más gomosa ($p < 0,05$) que la del pan HT:HA, lo cual, nuevamente, se debió a la mayor dureza inicial de estas migas.

Tabla 1: Parámetros de TPA determinados a las migas de los panes HT:AT y HT:HA, con y sin GB adicionada.

		Cohesividad	Adhesividad (g)	Gomosidad (g)	Elasticidad (mm)
HT:AT	fresco	0,75±0,05d	-0,11±0,07a	749,31±40,43ab	9,11±0,32c
	24 hs	0,68±0,04c	-0,06±0,06a	724,44±144,81ab	8,97±0,12c
	48 hs	0,50±0,03a	-1,03±1,57a	638,66±34,44a	8,52±0,21bc
	72 hs	0,52±0,04ab	-0,42±0,57a	638,47±49,90a	7,12±0,74a
HT:AT+GB	fresco	0,69±0,05cd	-0,10±0,07a	792,70±18,58b	9,16±0,04c
	24 hs	0,61±0,04bc	-0,10±0,06a	755,83±38,33ab	9,06±0,06c
	48 hs	0,60±0,06b	-0,09±0,03a	712,06±17,78ab	8,81±0,20bc
	72 hs	0,57±0,05b	-0,09±0,04a	701,16±28,83ab	8,19±0,24b
HT:HA	fresco	0,77±0,03d	-0,17±0,16a	471,53±161,96d	9,04±0,08c
	24 hs	0,62±0,05bc	-0,08±0,10a	631,50±164,51a	8,82±0,16bc
	48 hs	0,69±0,13cd	-0,12±0,06a	710,04±172,20ab	9,27±0,16c
	72 hs	0,54±0,03ab	-1,40±1,69a	816,70±63,73b	8,92±0,17c
HT:HA+GB	fresco	0,78±0,06d	-0,08±0,07a	514,90±44,52c	9,34±0,37c
	24 hs	0,69±0,05cd	-0,11±0,03a	644,03±41,04a	8,94±0,29c
	48 hs	0,66±0,04c	-0,10±0,10a	754,02±70,88ab	8,52±0,49bc
	72 hs	0,61±0,06bc	-0,12±0,09a	768,66±14,89b	8,83±0,20c

Medias±DE ($n=3$). Letras diferentes en la misma columna denotan diferencias significativas ($*p < 0,05$).

HT:AT: mezcla de harina de trigo y aislado proteico de tarwi (90:10); **HT:AT+GB:** mezcla de harina de trigo y aislado proteico de tarwi (90:10) con goma brea (0,5%); **HT:HA:** mezcla de harina de trigo y harina de arvejas (80:20); **HT:HA+GB:** mezcla de harina de trigo y harina de arvejas (80:20) con goma brea (0,5%)

La elasticidad se define como la altura a la cual la muestra retrocede (o se relaja) entre el final de la primera compresión (primer mordisco) y el comienzo de la segunda compresión (segundo mordisco). Un alimento con alta elasticidad tiene una textura gomosa mientras que un producto con baja elasticidad es un producto quebradizo. En las migas de los panes con AT, la

elasticidad fue disminuyendo gradualmente con el tiempo, lo cual se relaciona con la pérdida la gomosis. Debe destacarse que la muestra con GB resultó significativamente más gomosa ($p < 0,05$) que su par sin GB a las 72 horas de almacenamiento.

Las migas de los panes HT:HA experimentaron también una pérdida de elasticidad, pero fue menos marcada que la de las migas con AT, lo cual se relacionaría a la mayor gomosis de las migas con HA.

La masticabilidad (**Figura 2**) es el producto de la gomosis por la elasticidad. Este resultado solo se puede usar para comparar muestras de la misma altura (2,5 cm en este estudio). Esta variable se mide en relación a la elasticidad: un alimento con una alta elasticidad tiene una textura gomosa mientras que un producto de baja elasticidad es un producto fracturable. La masticabilidad de las muestras con AT fue disminuyendo con el tiempo, y fue mayor para las migas de los panes HT:AT+GB. Este resultado se relacionaría con la disminución de la gomosis experimentada por estas muestras conforme transcurrió el tiempo de almacenamiento.

En cambio, en las migas de los panes HT:HA, la masticabilidad fue incrementándose, lo cual también se relacionó con el comportamiento experimentado para la gomosis.

En conclusión, la GB retuvo más agua en el sistema, lo cual incrementaría la gomosis de las migas. Pero este efecto no se debería al incremento de la dureza (que de hecho, disminuye con el agregado del hidrocoloide al compararla con las migas sin GB), sino que, al ser más húmedas las migas con GB, resultaron más cohesivas (menos fracturables), efecto por el cual la gomosis, la elasticidad y por ende la masticabilidad a lo largo del tiempo, fueron mayores que las presentadas por las migas sin GB.

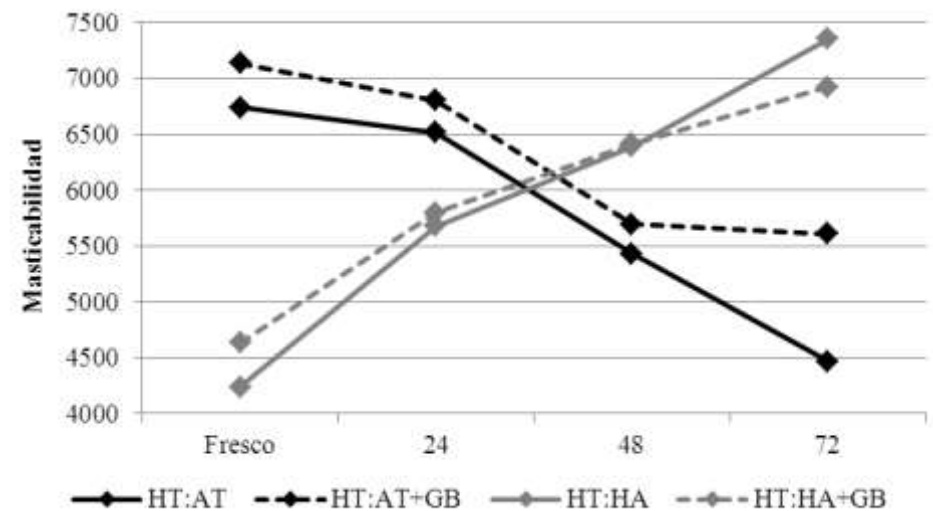


Figura 2. Variabilidad en la masticabilidad de las migas de los panes HT:AT y HT:HA con y sin GB adicionada.

HT:AT: mezcla de harina de trigo y aislado proteico de tarwi (90:10); HT:AT+GB: mezcla de harina de trigo y aislado proteico de tarwi (90:10) con goma brea (0,5%); HT:HA: mezcla de harina de trigo y harina de arvejas (80:20); HT:HA+GB: mezcla de harina de trigo y harina de arvejas (80:20) con goma brea (0,5%)

A continuación la **Figura 3** muestra los resultados para el valor L^* y la **Tabla 2** los referidos a los parámetros a^* y b^* .

En las migas frescas, la mayor luminosidad (**Figura 3**) la presentó la miga del pan HT:HA, y la menor la del pan HT:AT, siendo la diferencia significativa ($p < 0,05$). Este comportamiento puede deberse a la mayor proporción de componente b^* del AT (datos

no mostrados). Las muestras con GB adicionada presentaron menor valor de L* en ambos casos. A continuación se presentan los datos derivados del análisis del color de la miga.

A las 24 horas, la luminosidad disminuyó para la muestra HT:HA, manteniéndose casi inalterable para las demás muestras. A las 48 horas, la luminosidad cayó significativamente para todas las migas, excepto para HT:AT+GB.

Mientras que a las 72 horas, la muestra HT:HA, que fue la más luminosa al principio, resultó en el menor valor para L*, es decir, con el transcurso del tiempo de almacenamiento la luminosidad de las migas se vio afectada ya que disminuyó conforme avanzó el tiempo, lo cual fue claramente más marcado para la miga del pan HT:HA.

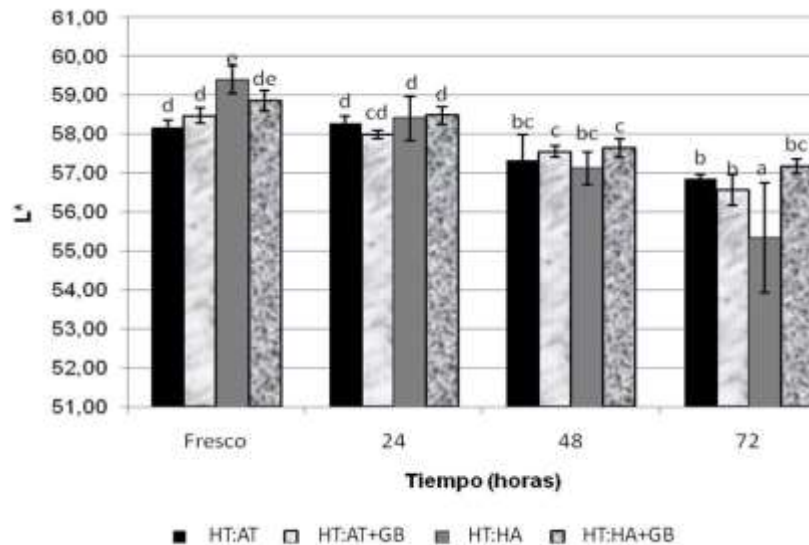


Figura 3. Parámetro L* de las migas de los panes HT:AT y HT:HA con y sin GB adicionada. Letras diferentes en las barras de igual color denotan diferencias significativas ($p < 0,05$). HT:AT: mezcla de harina de trigo y aislado proteico de tarwi (90:10); HT:AT+GB: mezcla de harina de trigo y aislado proteico de tarwi (90:10) con goma brea (0,5%); HT:HA: mezcla de harina de trigo y harina de arvejas (80:20); HT:HA+GB: mezcla de harina de trigo y harina de arvejas (80:20) con goma brea (0,5%)

El parámetro a*, que denota la variación del color entre el rojo (+) y el verde (-), no evidenció diferencias significativas entre los cuatro tipos de migas, ni variaciones con el transcurso del tiempo.

Mientras, el parámetro b*, que indica la variabilidad del color entre el amarillo (+) y el azul (-), mostró una gran diferenciación entre las muestras, destacándose que las elaboradas con HA tuvieron una mayor tendencia al amarillo que las de AT, lo cual se debió al mayor nivel de sustitución empleado en el pan HT:HA. Debe destacarse que el parámetro b* no evidenció modificaciones con el tiempo de almacenamiento.

Los parámetros a* y b* (**Tabla 2**) no sufrieron modificaciones importantes con el tiempo de almacenamiento, pero el parámetro L* evidenció un descenso a medida que transcurrieron los días, por lo cual, se concluyó en que las migas de los panes de harinas compuestas se tornaron más opacas, a medida que transcurrió el tiempo. La miga más oscura, resultó la del pan HT:HA a las 72 horas. La GB no mostró influencia en el color inicial ni final de las migas de pan, cualquiera fuera la mezcla utilizada para la elaboración.

Se presentan a continuación (**Tabla 3**) los datos de la composición química en macronutrientes y de la disponibilidad

de lisina (LD) (**Figura 3**) para dichas formulaciones. Los panes con AT resultaron los de mayor contenido proteico y los adicionados con HA los de mayor contenido graso. La adición de GB sólo modificó el contenido de humedad y no afectó en absoluto el contenido de carbohidratos o proteínas, dado que el grado de adición fue el mínimo indispensable para que este hidrocoloide cumpla con su función de aditivo alimentario.

El agregado de AT a la formulación del pan incrementó en un 65% el contenido proteico del pan control, mientras que la adición de HA, mejoró en un 13,9% la cantidad de proteínas presentes.

El pan con adición de AT fue el que presentó mayores valores de LD (**Figura 4**), siendo esta diferencia significativa ($p < 0,05$). Este resultado era esperable ya que el AT aportó mayor concentración de lisina.

El pan con HA no presentó diferencias significativas con el control ni con los panes con AT, es decir, evidenció un valor de LD intermedio.

El agregado de GB a las formulaciones no afectó en absoluto la disponibilidad de lisina (**Figura 4**) en los panes, lo cual no es un dato menor, ya que al haber mayor cantidad de agua en el sistema, la disponibilidad de lisina no se vio influida. A razón de esto, debe recordarse que la reacción de Maillard es una glucosilación no enzimática de proteínas que por lo tanto ocurre cuando están presentes en un sistema dado un azúcar reductor y lisina, en presencia de baja disponibilidad de agua (Malec *et al.*, 2002).

Tabla 2: Parámetros a^* y b^* de las migas de los panes HT:AT y HT:HA con y sin GB adicionada.

Miga	Tiempo	a^*	b^*
HT:AT	Fresco	12,97±0,40a	37,55±0,77bcd
	24 hs	13,38±0,64a	38,67±0,08cd
	48 hs	13,01±0,21a	38,58±0,18cd
	72 hs	12,84±0,10a	38,71±0,62d
HT:AT+GB	Fresco	13,78±0,28a	35,96±0,16a
	24 hs	13,45±0,32a	36,18±0,06ab
	48 hs	13,01±0,10a	37,17±0,25abc
	72 hs	13,21±0,04a	37,41±0,24abcd
HT:HA	Fresco	12,92±0,04a	39,72±2,28e
	24 hs	13,17±0,48a	38,37±0,49cd
	48 hs	13,56±0,41a	38,91±0,21de
	72 hs	13,47±0,06a	39,91±0,60e
HT:HA+GB	Fresco	12,87±0,30a	39,72±2,28e
	24 hs	13,37±0,25a	38,77±0,49d
	48 hs	13,58±0,51a	38,95±0,21d
	72 hs	13,70±0,25a	39,21±0,60de

Medias ± DE (n=3). Letras diferentes en la misma columna denotan diferencias significativas (* $p < 0,05$). HT:AT: mezcla de harina de trigo y aislado proteico de tarwi (90:10); HT:AT+GB: mezcla de harina de trigo y aislado proteico de tarwi (90:10) con goma brea (0,5%); HT:HA: mezcla de harina de trigo y harina de arvejas (80:20); HT:HA+GB: mezcla de harina de trigo y harina de arvejas (80:20) con goma brea (0,5%)

Tabla 3: Composición química de panes control, HT:AT y HT:HA con y sin agregado de GB.

Panes	Humedad g/100g	Cenizas g/100g	Proteínas g/100g	Grasas g/100g	Carbohidratos g/100g
HT+GB	45,34±0,15b	0,53±0,10 ^a	8,36±0,83a	0,84±0,02a	44,80±1,12c
HT:AT	46,58±0,37c	0,54±0,02a b	13,97±1,14 c	0,88±0,01a	37,87±1,93ab
HT:AT+GB	47,55±0,15d	0,55±0,08b	14,05±1,06 c	0,87±0,08a	36,38±2,06a
HT:HA	46,12±0,05c	0,63±0,06bc	9,64±0,86b	2,07±0,05 b	40,80±3,01b
HT:HA+GB	47,11±0,24c d	0,66±0,08c	9,70±0,21b	1,90±0,03 b	39,02±2,24b

Medias ± DE (n=3). Letras diferentes en la misma columna denotan diferencias significativas ($p < 0,05$). HT:AT: mezcla de harina de trigo y aislado proteico de tarwi (90:10); HT:AT+GB: mezcla de harina de trigo y aislado proteico de tarwi (90:10) con goma brea (0,5%); HT:HA: mezcla de harina de trigo y harina de arvejas (80:20); HT:HA+GB: mezcla de harina de trigo y harina de arvejas (80:20) con goma brea (0,5%)

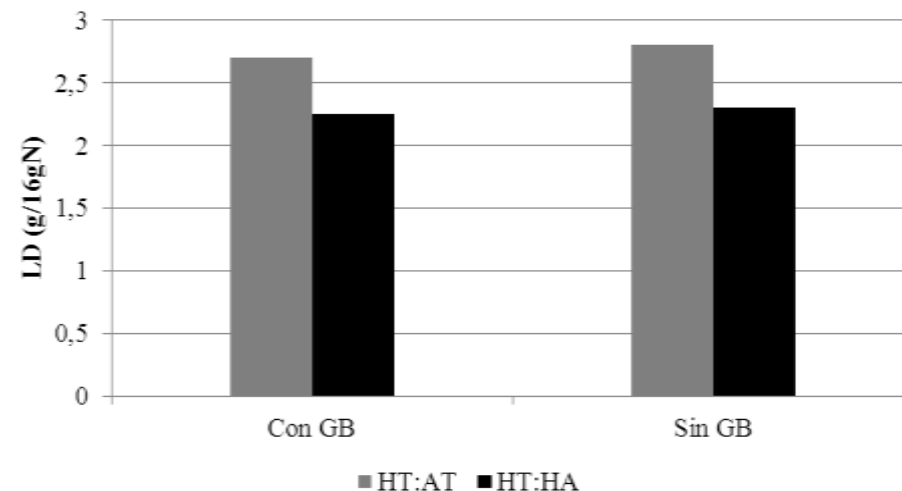


Figura 4: Lisina Disponible (g/16gN) en panes HT:AT y HT:HA con y sin agregado de GB. HT:AT: mezcla de harina de trigo y aislado proteico de tarwi (90:10); HT:AT+GB: mezcla de harina de trigo y aislado proteico de tarwi (90:10) con goma brea (0,5%); HT:HA: mezcla de harina de trigo y harina de arvejas (80:20); HT:HA+GB: mezcla de harina de trigo y harina de arvejas (80:20) con goma brea (0,5%)

A continuación, la **Figura 5** muestra los resultados en la aceptabilidad para cada tipo de pan. Ambos tipos de pan disminuyeron su aceptabilidad a medida que transcurrió el tiempo de almacenamiento. Los panes con AT presentaron una aceptabilidad general (**Figura 5 A**) entre los 4,5 y 7 puntos de la escala hedónica (me es indiferente y me gusta, respectivamente), disminuyendo a las 24 y 48 horas hacia el intervalo de puntuación comprendido entre 5 y 6 (me es indiferente y me gusta poco, respectivamente). A las

72 horas, el pan HT:AT obtuvo una puntuación entre de 5,8 (me gusta poco), mientras que la muestra sin goma evidenció una importante disminución ($p < 0,05$) en la puntuación (4,7 – me es indiferente). En conclusión, en los panes formulados con la mezcla de HT:AT, la aceptabilidad fue significativamente mayor ($p < 0,05$) al agregar el hidrocoloide, tanto en los panes frescos como en aquellos con el mayor tiempo de almacenamiento. A las 24 hs, la aceptabilidad fue levemente superior para el pan con GB, pero la diferencia no fue significativa, mientras que a las 48 hs ambos panes (con y sin GB) promediaron valores similares (5,7 y 5,8 respectivamente). Estas diferencias en la aceptabilidad sólo se pudieron explicar gracias a la opinión de cada consumidor, ya que a las 72 hs, el 80% de los consultados consideró que si consumirían el pan porque les parecía "rico/sabroso" y/o "esponjoso".

Los panes frescos elaborados con HA, presentaron una aceptabilidad general (**Figura 5 B**) entre los 6 y 6,5 puntos de la escala hedónica (me gusta poco), manteniendo la puntuación a las 24 horas y cayendo por debajo de 6 puntos a las 48 horas en el caso del pan con GB. A las 72 horas, la aceptabilidad cae por debajo de los 5,5 puntos (me es indiferente y/o me gusta poco). En este pan, no se observaron diferencias significativas al incluir GB a la formulación, y esto pudo deberse a que este pan contiene fibras además de proteínas, lo que pudo enmascarar la funcionalidad de la goma, adicionada en pequeña cantidad. Debe destacarse que a pesar de los resultados del análisis estadístico, el 52% de los consumidores opinó que si consumirían el pan HT:HA +GB a las 72 horas de almacenamiento por que resultó de "sabor agradable" y/o "esponjoso", mientras que para este pan sin el hidrocoloide, el

81% de los consultados consideró que no lo consumiría por ser "duro", "seco" y/o "sabor a viejo".

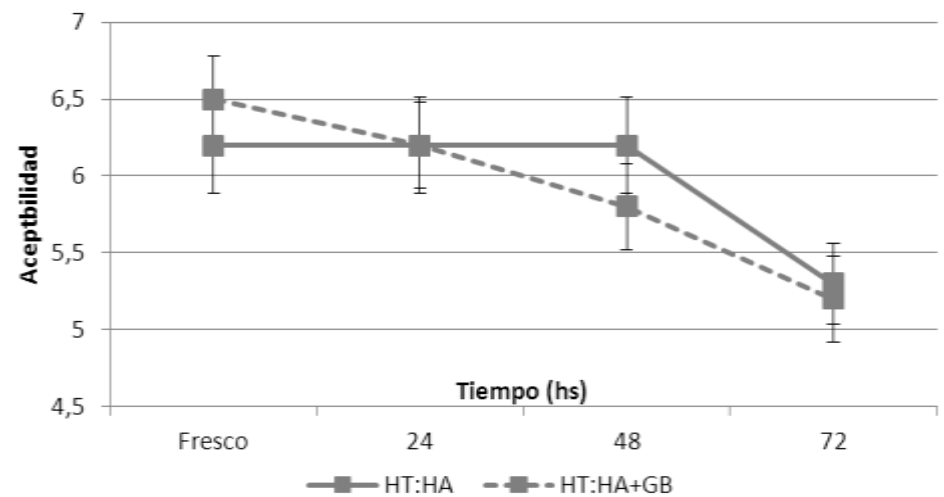
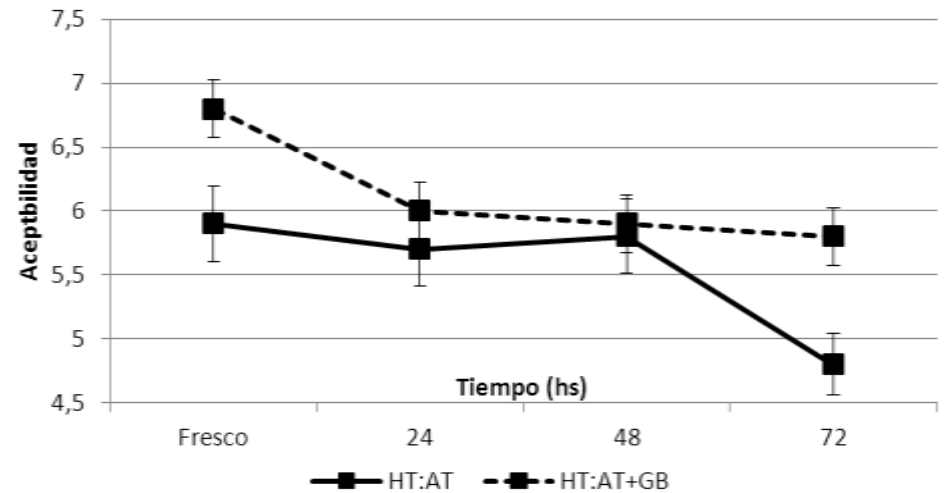


Figura 5: Aceptabilidad de los panes mezcla a lo largo de las 72 horas de almacenamiento.

A: HT:AT: mezcla de harina de trigo y aislado proteico de tarwi (90:10); HT:AT+GB: mezcla de harina de trigo y aislado proteico de tarwi (90:10) con goma brea (0,5%);- B: HT:HA: mezcla de harina de trigo y harina de arvejas (80:20); HT:HA+GB: mezcla de harina de trigo y harina de arvejas (80:20) con goma brea (0,5%)

Dadas las diferencias entre los datos instrumentales y sensoriales, se presentan a continuación los resultados derivados del análisis de componentes principales (PCA), discriminado según tipo de pan.

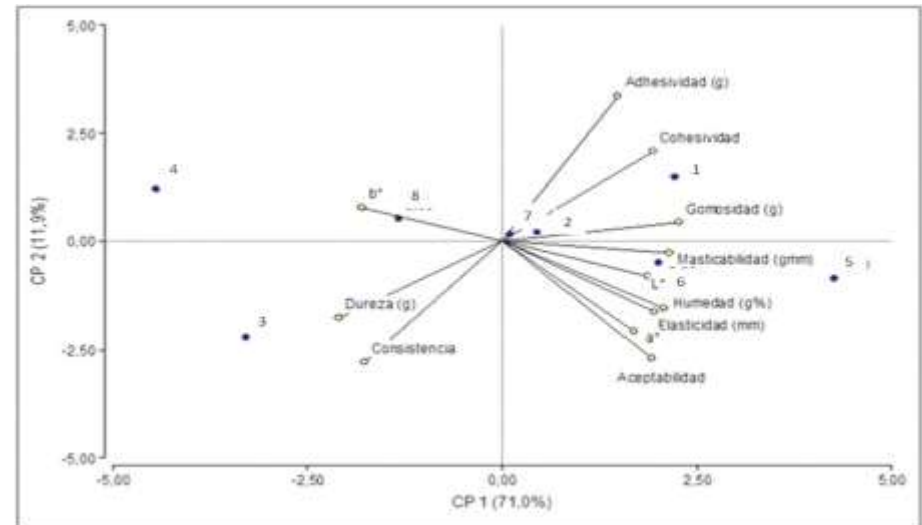
La **Figura 6 A**, muestra el resultado del PCA para los panes con agregado de AT, con y sin GB adicionada, a diferentes tiempos de almacenamiento.

El porcentaje de la varianza explicada por los dos componentes principales fue del 82,9%.

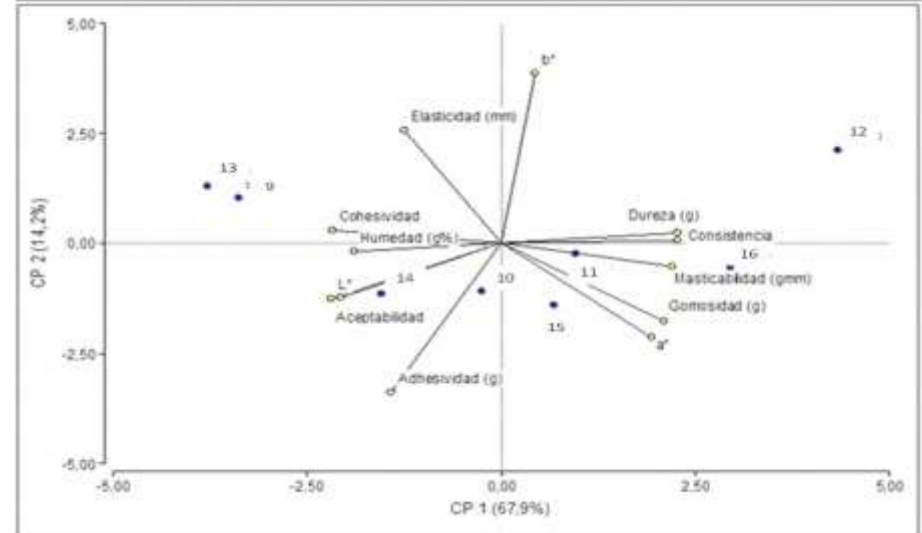
Los panes más aceptados fueron las muestras 5 (HT:AT+GB fresco) y 6 (HT:AT+GB 24hs), y fueron a su vez los que se relacionaron con mayor Humedad, Elasticidad y Masticabilidad, y mayores valores de L* y a*. Los panes más gomosos, adhesivos y cohesivos fueron las muestras 1 (HT:AT), 2 (HT:AT 24hs) y 7 (HT:AT+GB 48hs).

La muestra más dura fue la del pan HT:AT 48hs (3).

Las muestras menos aceptadas y de mayor tendencia al amarillo fueron las muestras 8 (HT:AT+GB 72hs) y la del pan HT:AT 72 hs (4), a su vez fueron las menos húmedas, menos elásticas y luminosas.



A



B

Figura 6: PCA para panes con AT (A) y HA (B), con y sin adición de GB, en diferentes tiempos de almacenamiento.

A) 1,2,3 y 4: HT:AT frescos y con 24, 48 y 72hs respectivamente. 5,6, 7 y 8: HT:AT+ GB frescos y con 24, 48 y 72hs respectivamente. B) 9,10, 11 y 12: HT:HA frescos y con 24, 48 y 72hs respectivamente. 13, 14, 15 y 16: HT:HA+GB frescos y con 24, 48 y 72hs respectivamente.

Para los panes con HA (**Figura 6 B**), el porcentaje de la varianza explicada por los dos componentes principales fue del 82,1%. La mayor aceptabilidad la lograron las muestras 14 (HT:HA+GB 24hs) y la de pan HT:HA 24hs (10), que a su vez fueron las de mayor luminosidad, humedad y adhesividad.

Las muestras de pan con HA frescos también fueron aceptadas y resultaron a su vez las de mayor elasticidad y cohesividad según el análisis de PCA.

Los panes menos aceptados fueron los de mayor dureza y tendencia al amarillo (12-HT:HA 72 hs). La aceptabilidad disminuye a medida que se incrementa la masticabilidad, la gomosidad y los tonos rojos, siendo las muestras 11 (HT:HA 48hs), 16 (HT:HA+GB72hs) y la 15 (HT:HA+GB48hs) las que presentaron estas características.

En resumen, las muestras más aceptadas fueron en su mayoría las que contenían GB en la formulación (14, 5 y 6), caracterizándose por ser más húmedas y luminosas. Mientras que las menos aceptadas fueron en general, aquellas con mayores tiempos de almacenamiento (4, 8 y 12) que se caracterizaron por ser más duras y con tendencia al amarillo, presentando este comportamiento en ambos tipos de panes independientemente de la mezcla utilizada.

A continuación se presenta un PCA que correlaciona la aceptabilidad de los panes de HT (solo utilizado en este punto del trabajo a fines comparativos) y de harinas mezcla (HT:AT y

HT:HA) con la composición en macronutrientes y el valor de LD (**Figura 7**).

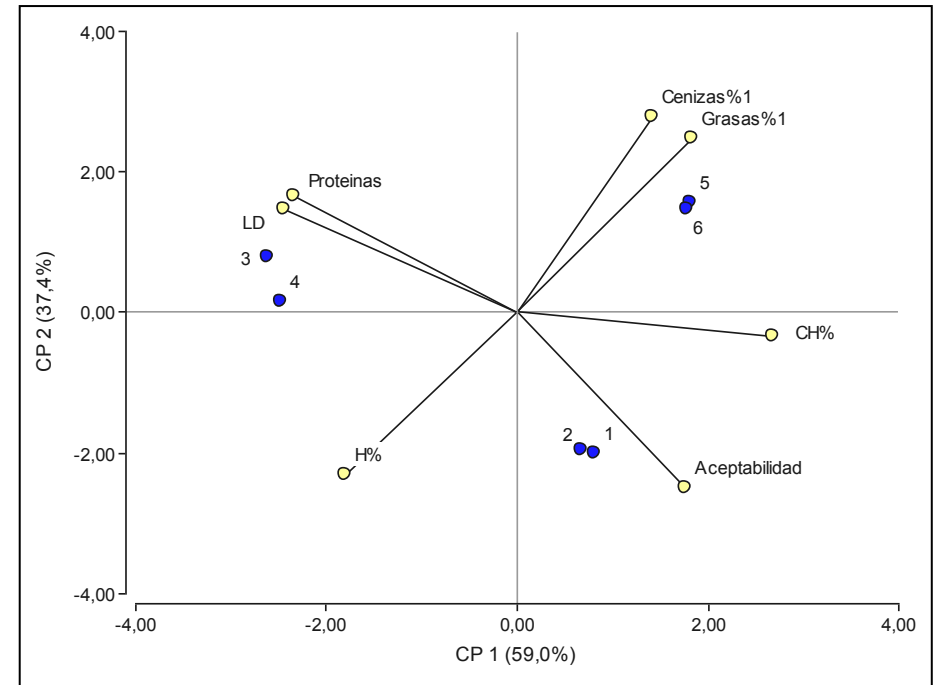


Figura 7: PCA para panes frescos de HT y mezclas de harina, con y sin adición de GB, en relación al aporte de macronutrientes y valor de LD. 1 y 2: panes control con y sin GB respectivamente. 3 y 4: panes HT:AT con y sin GB respectivamente. 5 y 6: panes HT:HA con y sin GB respectivamente.

El porcentaje de la varianza explicada por los componentes principales ligados al contenido de macronutrientes fue del 96,4% (**Figura 7**). Los panes más aceptados fueron los de mayor contenido de carbohidratos (CH%), es decir, los panes de HT con y sin adición del hidrocóide (1 y 2 respectivamente). Analizando el CP 1, la aceptabilidad también crece con el contenido de grasas y cenizas. Las muestras 5 y 6 (panes con HA, con y sin GB) también lograron buena aceptabilidad y en este caso se puede relacionar esto al mayor contenido de grasas y cenizas. Los panes que lograron la menor aceptabilidad fueron los elaborados con AT, con y sin el agregado del hidrocóide (3 y 4, respectivamente), que se caracterizaron por presentar mayor contenido proteico y mayor valor para LD.

En resumen, la adición de GB no influyó en la aceptabilidad cuando se evaluó desde el punto de vista del aporte nutritivo de los diferentes panes elaborados. La aceptabilidad fue mayor para los panes ricos en almidón y disminuyó conforme se incrementaba el contenido proteico.

CONCLUSIÓN

Las muestras más aceptadas son en su mayoría las que contienen GB en la formulación, caracterizándose por ser más húmedas y luminosas.

Las muestras menos aceptadas son, en general, aquellas con mayores tiempos de almacenamiento (que se caracterizan por ser más duras y consistentes y con tendencia al amarillo, presentándose este comportamiento en ambos tipos de panes independientemente de la mezcla utilizada.

La inclusión de GB no tiene efecto en la aceptabilidad evaluada en función del contenido en macronutrientes de cada tipo de pan elaborado, ya que independientemente de la adición o no del hidrocoloide, las muestras más aceptadas son aquellas ricas en carbohidratos y las menos aceptadas las de mayor contenido en proteínas.

Con este trabajo se pudo complementar dos recursos propios de la región (AT y GB) en la elaboración de un producto alimenticio básico, revalorizando así la utilización de los cultivos subexplotados sudamericanos.

BIBLIOGRAFÍA

AOAC. 1995. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist (Vol. II). Washington, DC, USA: The Association.

Bertuzzi MA, Slavutsky AM, Armada, M. 2012. Physicochemical characterisation of the hydrocolloid from Breatree (*Cercidium praecox*). International Journal of Food Science and Technology, 47: 776–782.

Booth VH. 1971. Problems in the determination of FBDN - available lysine. Journal the Science of Food and Agriculture, 22: 658-666.

De Pinto G, Rodriguez O, Martinez M, & Rivas C. 1993. Composition of *Cercidium praecox* gum exudates. Biochemical Systematics and Ecology, 21: 297-300.

El-Adawy TA, Rahma EH, El-Bedawy AA, Gafar AM. 2001. Nutritional potential and functional properties of sweet and bitter lupine seed protein isolates. Food Chemistry, 74: 455–462.

Gámbaro A, Fiszman S, Giménez A, Varela P, Salvador A. 2004. Consumer acceptability compared with sensory and instrumental measures of white pan bread: sensory shelf-life estimation by survival análisis. Journal of Food Science, 69: 401–405.

Giménez A, Varela P, Salvador A, Ares G, Fiszman S., Garitta L. 2007. Shelf life estimation of brown pan bread: A consumer approach. Food Quality and Preference, 18: 196-204.

Guarda A, Rosell C, Benedito C, Galotto M. 2004. Different hydrocolloids as bread improvers and antistaling agents. Food Hydrocolloids, 18: 241-247.

- Lampart-Szczapa E. 1996. Preparation of protein from lupin seeds. *Nahrung*, 40: 71–74.
- López, EP. 2014. Influence of the addition of lupine protein isolate on the protein and technological characteristics of dough and fresh bread with added Brea Gum. *Food Science and Technology*, 34: 195-203.
- Malec LS, Pereyra Gonzales AS, Naranjo GB, Vigo MS. 2002. Influence of water activity and storage temperature on lysine availability of a milk like system. *Food Research International*, 35: 849-853.
- Paraskevopoulou A, Provatidou E, Tsotsiou D, Kiosseoglu V. 2010. Dough rheology and baking performance of wheat flour - lupin protein isolate blends. *Food Research International*, 43: 1009-1016.
- Rosell C, Rojas J, Benedito de Barber C. 2001. Influence of hydrocolloids on dough rheology and bread quality. *Food Hydrocolloids*, 15: 75-81.

CONTENIDO DE CAROTENOS Y CARACTERIZACIÓN SENSORIAL DE MAMÓN (CARICA PAPAYA L.) EN ALMÍBAR

Lovera N.N.^{1,2}, Ramallo L.², Salvadori V.O.^{1,3}

1: Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA), CONICET.

2: Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales, UNaM.

3: Depto. Ing. Química, Facultad de Ingeniería, UNLP.
nancy.lovera@conicet.gov.ar

Resumen: Se estudió el efecto de la impregnación con sales de calcio, sobre las características de calidad del mamón en almíbar. Se ensayaron diferentes pretratamientos con soluciones isotónicas de calcio (lactato y gluconato), durante 4 y 24 h. La cocción se realizó en solución de sacarosa a 60°Brix en ebullición, la fruta procesada fue envasada en frascos de vidrio con almíbar de 60°Brix (7 días a 8°C). Un panel entrenado identificó los descriptores más adecuados para describir las características sensoriales del producto, y se realizó un test de ordenamiento por preferencia de la fruta en almíbar obtenida con distintos pretratamientos. El análisis sensorial permitió diferenciar las características de fruta en almíbar con los diferentes pretratamientos. A través de medidas instrumentales (carotenos totales, propiedades mecánicas, contenido de sólidos solubles, humedad y encogimiento) se evaluó el efecto de la cocción en almíbar y del almacenamiento. Se comprobó que existe una alta correlación entre los atributos sensoriales e instrumentales. Tanto la cocción como el almacenamiento provocan una

reducción considerable del contenido de carotenos totales respecto de la fruta fresca. El pretratamiento con Ca tiene efecto positivo en la firmeza, la pérdida de peso y el encogimiento, siendo mayor este efecto cuando se utiliza lactato de calcio.

Palabras clave: Carotenos, Textura, Mamón en almíbar, Análisis sensorial.

Abstract: In this work the effect of calcium impregnation on quality characteristics of papaya in syrup were studied. Four impregnation treatments were investigated, using isotonic calcium (lactate or gluconate) solutions, and 4 or 24 h immersion times. Then, the fruit was cooked in 60° Brix syrup for 1 h. Samples were packaged in glass jars covered with 60 ° Brix syrup (7 days at 8°C). A trained sensory panel identified the most suitable descriptors to characterize the product; and a preference test was performed. Sensory analysis allows distinguishing fruit in syrup obtained with different pretreatments. The effect of cooking in syrup and storage was evaluated by means of instrumental measurements (total carotene content, mechanical properties, soluble solids content, moisture and shrinkage). A high correlation between sensory attributes and instrumental measurements was verified. Both cooking and storage produce a high reduction of total carotene content related to the fresh fruit. Calcium impregnation pretreatment have a positive effect in the firmness, weight loss and shrinkage, being this feature higher when calcium lactate was used.

Keywords: Carotene, Texture, Papaya in syrup, Sensory Analysis.

INTRODUCCIÓN

En el norte de Argentina se produce y comercializa el mamón (*Carica papaya* L.) en almíbar. Su elaboración industrial se realiza generalmente con la fruta verde. Es sabido que el contenido de carotenos totales aumenta exponencialmente con el grado de maduración en la fruta, a medida que se desarrolla el color naranja. Los resultados de la evaluación sensorial de papayas de Zuhair *et al.* (2013) mostraron que la aceptación general aumentó con el grado de maduración de la fruta. En trabajos anteriores se estudió el efecto del pretratamiento con sales de calcio sobre el incremento del mineral y de la firmeza en el tejido de la fruta, determinando las condiciones de trabajo más apropiadas (Lovera *et al.* 2011a). Asimismo, un estudio de aceptabilidad sensorial con marcas comerciales de mamón en almíbar, permitió conocer que el color y la textura definen la calidad del producto (Lovera *et al.* 2011b). En el proceso industrial del mamón en almíbar se parte de frutas en estado de madurez bajos (100% de cáscara verde y semillas blancas). Sin embargo, partiendo de frutas maduras se lograría un producto diferente de mejores características nutricionales y sensoriales. En este sentido, resulta necesario caracterizar el nuevo producto. En análisis sensorial de alimentos existen técnicas como el análisis descriptivo cuantitativo (QDA) que se utilizan para describir la naturaleza y la intensidad de las propiedades sensoriales de un producto (Muray *et al.* 2001).

El objetivo de este trabajo es realizar la caracterización sensorial de frutas maduras de mamón en almíbar con diferentes pretratamientos de impregnación con calcio y estudiar la variación del contenido de carotenos, el color y las propiedades mecánicas durante la elaboración del producto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de las muestras

Se trabajó con frutas de mamón (*Carica papaya* L. cv. Formosa) de 76–100% de superficie amarilla (grado de maduración 5) (Pereira *et al.* 2009), adquiridas en el mercado de la provincia de Misiones. Las frutas fueron lavadas con agua destilada y peladas con cuchillo de acero inoxidable. La pulpa se seccionó, con un sacabocados de acero inoxidable, en cilindros de $10,5 \pm 0,5$ mm de altura y 25 ± 1 mm de diámetro.

Pre-tratamiento: Impregnación con calcio

Como medio de impregnación se utilizó una solución isotónica de sacarosa con una concentración de 1,5 % (p/p) de lactato o gluconato de calcio, a temperatura (45°C) y agitación constantes (150rpm) durante todo el pre-tratamiento (4 ó 24 horas). La solución utilizada fue isotónica con respecto al contenido de sólidos solubles de la fruta fresca con el fin de evitar los mecanismos de transferencia de agua (deshidratación osmótica o lixiviado). Los cilindros de fruta recién cortados fueron inmediatamente sumergidos en la solución de impregnación. Se tomaron al azar muestras que se utilizaron para analizar sus propiedades fisicoquímicas.

Cocción: Elaboración de fruta en almíbar

La cocción se realizó en solución de sacarosa de 60 °Brix a ebullición constante, en recipiente de acero inoxidable, durante 1 h. Se preparó mamón en almíbar partiendo de fruta previamente

impregnada y de fruta sin impregnación (control). Inmediatamente después de la cocción se tomaron muestras al azar para realizar las mediciones instrumentales y las restantes se envasaron en frascos de vidrios con almíbar (60°Brix) y se mantuvieron a 8°C hasta su análisis sensorial. En la **Tabla 1** se detallan las características del material de trabajo, de las experiencias realizadas y sus denominaciones.

Se prepararon 2 lotes de mamón en almíbar partiendo de 5 frutas de papaya con y sin pretratamiento (control), el primer lote se destinó a las etapas de generación de descriptores y al entrenamiento del panel sensorial y el segundo lote a la etapa de medición del QDA, al test de ordenamiento por preferencia y a las medidas instrumentales.

Tabla 1: Denominación de los tratamientos.

Tratamientos	Denominación
Fruta fresca	F
Cocción	C
Cocción + Almacenamiento	CA
Impregnación con gluconato de Ca durante 4 h	Glu4
Impregnación con gluconato de Ca durante 4 h + Cocción	Glu4C
Impregnación con gluconato de Ca durante 4 h + Cocción+ Almacenamiento	Glu4CA
Impregnación con lactato de Ca durante 4 h	Lac4
Impregnación con lactato de Ca durante 4 h + Cocción	Lac4C
Impregnación con lactato de Ca durante 4 h + Cocción+ Almacenamiento	Lac4CA
Impregnación con gluconato de Ca durante 24 h	Glu24
Impregnación con gluconato de Ca durante 24 h + Cocción	Glu24C
Impregnación con gluconato de Ca durante 24 h + Cocción+ Almacenamiento	Glu24CA
Impregnación con lactato de Ca durante 24 h	Lac24
Impregnación con lactato de Ca durante 24 h + Cocción	Lac24C

Impregnación con lactato de Ca durante 24 h + Cocción+ Almacenamiento

Lac24CA

Evaluación sensorial

Los atributos sensoriales de las muestras fueron evaluados mediante un análisis descriptivo cuantitativo (QDA)(Stone *et al.* 1974).Se reclutaron 12evaluadores (6 mujeres y 6 hombres), de 25 a 64 años, miembros de la FCEQyN de la Universidad Nacional de Misiones, con experiencia en QDA en otros proyectos. Los panelistas son consumidores habituales de mamón en almíbar de marcas comerciales y de elaboración doméstica. Las cuatro muestras de mamón en almíbar (Glu4CA, Lac4CA,Glu24CA, Lac24CA) fueron presentadas en recipientes individuales con códigos numéricos de tres dígitos. Como neutralizantes entre muestras los evaluadores contaron con agua y galletitas crackers (o saladas). La intensidad de los atributos se cuantificó en una escala de medición continua de 10 cm, ancladas en los extremos (Shamaila *et al.* 1992). La etapa de generación de descriptores se llevó a cabo mediante "lluvia de ideas" en mesa redonda, en dos sesiones de 45 min. Los descriptores generados (**Tabla 2**) se listaron en un pizarrón y se debatieron con los integrantes del panel para unificar los conceptos. En la etapa de entrenamiento (3 sesiones de 45-50 min) los evaluadores debatieron los resultados hasta llegar a un consenso y cuando fue posible se les presentó referencias (**Tabla 3**) definidas mediante medidas instrumentales, para los extremos de la escala. La etapa de medición (2 sesiones de 45-50 min) se realizó en cabinas individuales y las muestras fueron presentadas con códigos numéricos diferentes a los usados en la etapa de entrenamiento.

La evaluación se realizó en un laboratorio con iluminación adecuada.

Se realizó un test de ordenamiento por preferencia con 19 consumidores habituales del producto, utilizando un ordenamiento de 1(Gusta más) - 4 (Gusta menos). Se les presentó las cuatro muestras codificadas y se les solicitó que las ordenaran según los atributos: *color, textura y preferencia global*, asignando el primer orden a la que gusta más y el último orden a la que gusta menos. Así mismo, se les solicitó que hicieran comentarios acerca de la muestra que les gustó más.

Tabla 2: Atributos sensoriales, definición y protocolo de evaluación de mamón en almíbar.

Atributo Sensorial (Descriptor)	Definición	Protocolo de evaluación
Apariencia		
Color Naranja	Percepción visual que se genera al interpretar las señales nerviosas que envían los fotorreceptores en la retina del ojo.	Observar las referencias y luego evaluar el color.
Textura Manual		
Fuerza de compresión	Fuerza necesaria para comprimir la muestra.	Presionar la muestra en el centro con el dedo índice y evaluar la fuerza necesaria para comprimir la muestra.
Textura Bucal		
Firmeza (1ª mordida)	Fuerza requerida para comprimir completamente la fruta en almíbar entre los molares.	Colocar la muestra entre los molares y evaluar la fuerza requerida para comprimir la muestra (a mayor fuerza, mayor firmeza).

Trabajo Bucal (Masticadas)	Cantidad de masticadas (a una velocidad constante) requerida para degradar la muestra y dejarla lista para ser ingerida.	Masticar a una velocidad constante, evaluar la cantidad de masticadas necesarias para dejar la muestra lista para ingerir.
Sabor		
Sabor a Mamón fresco	Relacionado con el sabor característico de la fruta.	Probar la muestra y evaluar la intensidad del sabor a mamón fresco
Intensidad global del sabor	Impacto global de sabor.	Evaluar la intensidad del sabor global del alimento, cuantificando cuan invasivo resulta el sabor global en la boca.

Tabla 3: Referencias

Atributo	Referencias	Parámetro fisicoquímico determinado
Color Naranja	Mínimo: Mermelada de naranja marca comercial (Noel)	Mínimo: Hue: 71,41±0,79
	Máximo: Mermelada de ciruela marca comercial(Canale)	Máximo Hue: 33,51±0,43
Firmeza	Mínimo: Queso cremoso marca comercial (Tregar)	Mínimo Frup: 0,28±0,03 N
	Máximo: Queso criollo marca comercial (Tregar)	Máximo Frup 2,11±0.43 N
Sabor Mamón fresco	Mínimo: Pulpa de fruta verde (100% de cáscara verde)	Mínimo. °Brix 6,87±0,63
	Máximo: Pulpa de fruta madura (76-100% de cáscara amarilla)	Máximo °Brix 10,75±1,19

Determinaciones instrumentales

Las determinaciones instrumentales se realizaron en muestras fresca, con y sin pre-tratamientos, en muestras almacenadas durante 7 días (8°C).

El contenido de agua o humedad se determinó gravimétricamente, mediante secado de aproximadamente 7 g de fruta en estufa a 75°C hasta pesada constante (48 h) (AOAC 1980). La determinación de sólidos solubles se realizó empleando un refractómetro Hanna HI96801 (precisión $\pm 0,01$) (AOAC 1980).

La extracción se realizó de acuerdo a la técnica descrita por Jaeger de Carvalho, *et al.* 2012 con adaptaciones para el mamón fresco y procesado. 7, 5g de muestra fueron desintegradas en un mortero, con la adición de 1, 5 g de celite 454 (Anedra). Para la extracción de los carotenos se le adicionó 12,5 ml de acetona (Sintorgan) hasta obtener una pasta que fue transferida a un embudo con papel de filtro acoplado a un kitasato de 250 ml y filtrada mediante vacío. La adición de acetona se realizó hasta que las muestras se decoloraron completamente. El extracto obtenido se transfirió a una ampolla de decantación que contenía 20 ml de éter de petróleo (Biopack 60-80°C). La acetona fue removida mediante el agregado lento de agua bidestilada (40 ml) para prevenir la formación de emulsiones. El extracto fue transferido a través de un embudo a un matraz aforado de 25 ml, que contenía 7,5 g de sulfato de sodio anhidro (Anedra) y se llevó a volumen con éter de petróleo. La lectura de las soluciones obtenidas se realizó mediante un espectro de absorción en la región visible 350-500nm en un espectrofotómetro UV (UV-2550,

Shimadzu). El contenido de carotenos totales ($\mu\text{g}/100 \text{ g ff}$) se determinó a 450 nm utilizando la curva de calibración obtenida con diluciones de un patrón de β -carotenos (Sigma- Aldrich).

La firmeza de la fruta fresca y tratada se evaluó utilizando un texturómetro (TA.XT2i Texture Analyser, Stable Micro Systems, Surrey, UK), equipado de una célula de carga 5 N. Se aplicó el test de punción utilizando una sonda de acero inoxidable, de sección circular de 2 mm de diámetro. Se realizaron medidas sobre 10 muestras diferentes, para cada tratamiento. Mediante el software propio del texturómetro, se registraron los datos de fuerza $F(t)$ (N) y distancia $d(t)$ (mm). La firmeza (F_{rup}) fue definida como la fuerza necesaria para romper la muestra obtenida en el ensayo (Schweiggert *et al.* 2011) es decir la fuerza máxima necesaria para penetrar un 70 % la muestra. Se reportan la firmeza (F_{rup}) y el trabajo de punción total (W) que está representado por el área debajo de la curva $F-d$ hasta el final del ensayo.

El color superficial de las muestras se determinó con un colorímetro (Minolta CR-300, Osaka, Japón), obteniéndose los parámetros de cromaticidad a^* (rojo/verde) y b^* (amarillo/azul) y luminosidad L^* . Los valores presentados corresponden a la media de ocho mediciones. Con estos valores se calcularon los parámetros ángulo Hue y ΔE a través de las ecuaciones (1) y (2):

$$\text{Hue} = \tan^{-1}(b^*/a^*), \quad (\text{cuando } a^* > 0) \quad (1)$$

$$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad (2)$$

El parámetro Hue describe el color tal cual lo percibe una persona (es decir, verde, rojo, amarillo, etc.). El ΔE describe el cambio del color total, los valores ΔL^* , Δa^* y Δb^* fueron calculados como la diferencia entre cada valor de las muestras tratadas y el valor promedio de la fruta fresca correspondiente.

Análisis Estadístico

Los datos instrumentales y del QDA fueron analizados mediante análisis de varianza, cuando hubo diferencia significativa a un nivel de confianza del 95% ($p < 0,05$), se compararon las medias mediante el test de rangos múltiples (LSD: método de las mínimas diferencias de Fisher). El test de ordenamiento por preferencia se determinó por medio del test de Friedman. Por medio del software STATGRAPHICS (Statgraphics 2009).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación sensorial

El análisis descriptivo cuantitativo (QDA) se utilizó para identificar y cuantificar los atributos más representativos del mamón en almíbar. En la **Tabla 4**, se presentan la intensidad que le asignaron los evaluadores a los atributos seleccionados durante la etapa de medición del QDA y los parámetros medidos instrumentalmente que pueden estar relacionados. En la misma se observa que no hay diferencias significativas en los atributos "Color naranja" ni "Intensidad global del sabor", indicando que los resultados no dependen del pretratamiento. Por el contrario los atributos relacionados con las características de textura

(fuerza de compresión, firmeza y trabajo bucal) sí logran diferenciar los diferentes pretratamientos ensayados, resultando las tendencias similares a las evaluadas con las medidas instrumentales de Firmeza y Trabajo.

Tabla 4: Valores medios \pm DS de los atributos sensoriales y fisicoquímicos de mamón en almíbar con distintos pretratamientos.

Atributo/Muestra	Glu4CA	Lac4CA	Glu24CA	Lac24CA
<i>Atributos sensoriales</i>				
Color naranja	5,28 \pm 1,83 ^a	5,83 \pm 1,31 ^a	4,56 \pm 1,70 ^a	4,65 \pm 1,72 ^a
Fuerza de compresión	2,42 \pm 1,33 ^a	3,55 \pm 1,77 ^b	5,83 \pm 1,37 ^c	7,40 \pm 1,42 ^d
Firmeza	2,01 \pm 1,06 ^a	4,07 \pm 1,53 ^b	4,53 \pm 1,55 ^b	6,98 \pm 1,47 ^c
Trabajo bucal	2,37 \pm 0,99 ^a	4,35 \pm 1,76 ^b	4,29 \pm 1,48 ^b	7,01 \pm 1,14 ^c
Sabor a mamón fresco	5,73 \pm 1,43 ^a	4,56 \pm 1,62 ^b	4,35 \pm 1,74 ^b	3,13 \pm 1,59 ^c
Intensidad global del sabor	5,40 \pm 1,74 ^a	4,60 \pm 1,42 ^a	5,00 \pm 1,81 ^a	5,20 \pm 2,47 ^a
<i>Atributos instrumentales</i>				
Hue	49,76 \pm 6,68 ^a	52,65 \pm 3,30 ^a	53,88 \pm 1,28 ^a	54,59 \pm 2,18 ^a
Firmeza (N)	0,40 \pm 0,08 ^a	1,09 \pm 0,37 ^b	1,02 \pm 0,37 ^b	1,37 \pm 0,27 ^b
Trabajo (N.mm)	1,39 \pm 0,24 ^a	4,86 \pm 0,86 ^b	5,62 \pm 2,00 ^b	10,87 \pm 2,8 ^c
°Brix	57,25 \pm 0,35 ^a	56,25 \pm 0,35 ^a	56,50 \pm 0,71 ^a	56,75 \pm 0,35 ^a
Carotenos totales (ug/100g ff)	627,2 \pm 102,5 ^a	309,3 \pm 16,7 ^a	740,3 \pm 32,5 ^a	564,0 \pm 309,8 ^a
Humedad (% bh)	37,66 \pm 0,10 ^a	39,82 \pm 2,87 ^a	35,89 \pm 0,37 ^a	36,83 \pm 1,82 ^a

Letras diferentes en la misma fila indican diferencia significativa a $p < 0,05$.

Puede destacarse la alta correlación encontrada entre pares de atributos sensoriales y su correspondiente atributo medido instrumentalmente. Por ejemplo los resultados de trabajo bucal y trabajo y firmeza instrumental y sensorial se relacionan linealmente con valores de R^2 de 0,99 y 0,88 respectivamente. Así mismo, el Hue y Color naranja se relacionan linealmente con un valor de R^2 de 0,91.

Mediante el análisis QDA se identificaron y midieron los atributos sensoriales más adecuados para el mamón en almíbar, sin embargo este análisis no brinda información sobre la preferencia de los consumidores sobre las muestras estudiadas. En este sentido, se realizó un test de ordenamiento por preferencia con el objetivo de completar el estudio. En la **Tabla 5** se presentan los resultados del test de ordenamiento por preferencia de las cuatro muestras, los evaluadores ordenaron las muestras asignando el primer orden a la que más les agradó y el último orden a la que les gustó menos. Para esta evaluación se tuvieron en cuenta los atributos *Textura, Sabor y Preferencia global*. Los evaluadores asignaron el primer orden del ranking al mamón en almíbar elaborado con el pretratamiento con gluconato de calcio durante 4 horas, en todos los atributos (textura, sabor y preferencia global), este resultado, según comentarios de los propios evaluadores, puede estar relacionado con que fueron las que conservaron en mayor medida las características de la fruta fresca (La firmeza instrumental presentó valores de $0,24 \pm 0,07$ N en fruta fresca y $0,33 \pm 0,26$ N en fruta cocida, sin pretratamiento) en cuanto a textura. El último lugar en el ranking lo obtuvo el mamón en almíbar elaborado con lactato de calcio durante 24 hs posiblemente por ser el tratamiento que más modifica las características tanto físicas como sensoriales de firmeza y trabajo bucal, respecto de la fruta fresca o en almíbar elaborada sin

pretratamiento. Algunos evaluadores comentaron "sabor a mamón", "sabor fresco" "sabor natural" en referencia a las muestras Glu4Ca y un sabor "diferente" en las muestras Lac24CA.

Tabla5: Orden de preferencia \pm DS de los atributos sensoriales de mamón en almíbar con distintos pre-tratamientos (media 19 panelistas).

Muestra/Atributo	Textura	Sabor	Preferencia global
Glu4CA	1,53 ^a	1,47 ^a	1,53 ^a
Lac4CA	2,26 ^{a,b}	2,63 ^{b,c}	2,42 ^b
Glu24CA	2,68 ^b	2,58 ^{c,d}	2,53 ^b
Lac24CA	3,53 ^c	3,42 ^d	3,63 ^c

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa a $p < 0,05$.

Determinaciones instrumentales

Se evaluaron las propiedades instrumentales del producto durante el proceso de elaboración y luego de siete días de almacenamiento.

En la **Tabla 6** se presentan la evolución del contenido de sólidos solubles, la humedad, el peso, el espesor y el diámetro de lo mamón en almíbar durante la elaboración (con y sin pretratamiento) y el almacenamiento.

Los resultados indican que la cocción y el almacenamiento de las frutas maduras de papaya producen una deshidratación, con una reducción del contenido de agua de 66 - 78% respecto de la fruta fresca. El contenido de sólidos solubles aumenta entre 3 y 4

veces luego de la cocción y se acerca a la concentración del líquido de cobertura luego de los 7 días de almacenamiento.

Se observa un efecto protector del calcio en el espesor, el diámetro y el peso de las muestras después de la cocción y el almacenamiento, siendo más notable este efecto cuando se utilizó lactato de calcio y el mayor tiempo de impregnación.

El contenido de carotenos totales en la fruta fresca de mamón fue de $3522 \pm 533 \mu\text{g}/100 \text{ g ff}$. Resultados similares fueron reportados por De Almeida Mélo *et al.* (2006) 4396 y 4638 $\mu\text{g}/100 \text{ g ff}$ para las variedades Formosa y Hawai respectivamente. En la **Figura 2** se observan los valores de luminosidad L^* y de carotenos totales ($\mu\text{g}/100 \text{ g ff}$) durante el proceso de elaboración y el almacenamiento del mamón en almíbar, para los cuatro pretratamientos empleados en este estudio. El contenido de carotenos totales disminuye por efecto de la temperatura como así también durante el almacenamiento en la solución de cobertura. Los valores de luminosidad L^* disminuyen durante el procesamiento, siendo más notable su disminución luego de la cocción.

Los valores de L^* y contenido de carotenos totales se relacionan linealmente con coeficientes R^2 de 0,95, 0,99, 0,87 0,91 para las frutas pretratadas con gluconato 4h, con lactato 4h, con gluconato 24h y con lactato 24h respectivamente.

Tabla 6: Contenido de sólidos, humedad, espesor diámetro y peso de papaya fresca, impregnadas, cocidas y almacenadas en almíbar durante 7 días

Tratamiento	°Brix	Humedad (% b h)	Espesor(m m)	Diámetro(m m)	Peso(g)
F	10,58±0,34	86,10±1,10	10,43±0,29	25,50±0,22	5,48±0,11
C	38,50±0,71	52,35±0,98	6,21±0,32	21,25±0,73	3,27±0,24
CA	61,50±0,71	24,31±1,68	5,64±0,60	20,76±0,90	3,09±0,12
Glu4			9,95±0,44	25,52±0,39	5,24±0,09
Glu4C	36,25±0,35	52,24±0,26	6,71±0,25	22,59±1,68	3,80±0,76
Glu4CA	57,25±0,35	37,66±0,10	8,32±0,61	23,86±1,04	4,61±0,58
Lac4			9,95±0,44	25,52±0,39	5,21±0,13
Lac4C	44,25±0,35	51,84±2,88	8,23±0,60	23,23±0,55	4,13±0,24
Lac4CA	56,25±0,35	39,82±2,86	8,52±0,58	24,40±0,63	5,17±0,39
Glu24			9,84±0,22	25,37±0,50	5,38±0,06
Glu24C	34,25±0,35	49,34±0,66	8,92±0,38	22,91±0,89	5,13±0,58
Glu24C A	56,50±0,71	35,89±0,37	9,69±0,39	25,28±0,16	6,78±0,45
Lac24			9,86±0,14	25,48±0,40	5,39±0,27
Lac24C	42,25±0,35	51,41±1,44	9,69±0,35	24,82±0,67	6,17±0,48
Lac24C A	56,75±0,35	36,83±1,81	9,91±0,38	25,34±0,32	6,15±0,53

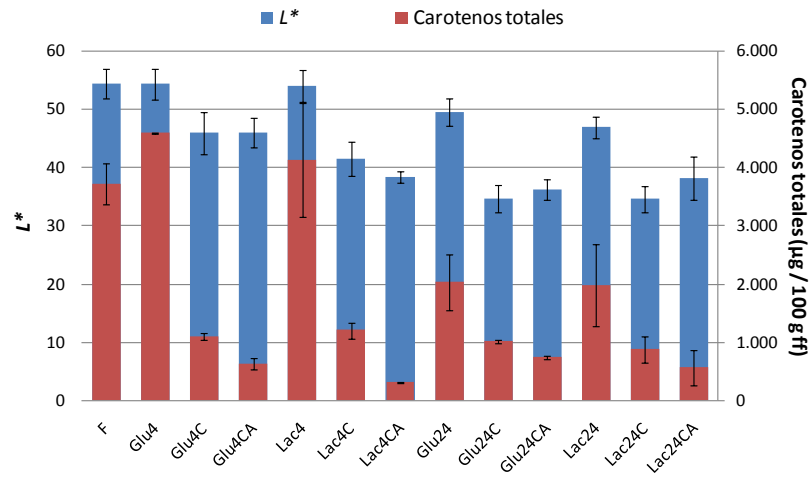


Figura 2: Contenido de carotenos totales y luminosidad de muestras de papaya fresca, impregnadas, cocidas y almacenadas en almíbar durante 7 días.

En la **Figura 3** se presentan los parámetros de color estudiados de las muestras de mamón en almíbar evaluadas sensorialmente (Glu4 CA, Lac4CA, Glu24CA y Lac24CA). Las muestras no presentaron diferencias significativas en los parámetros de color Hue y Chroma. Las muestras Glu4CA fueron las que presentaron mayor valor de luminosidad (L^*) y un menor cambio de color global (ΔE) respecto de la fruta fresca. Esto podría estar relacionado con la preferencia de los consumidores sobre estas muestras elaboradas con un pretratamiento de 4 h en gluconato de calcio.

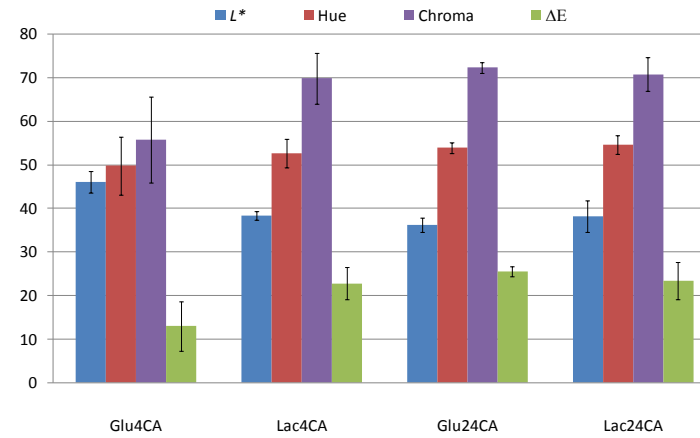


Figura 3: Parámetros de color de muestras de papaya en almíbar.

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se identificaron los descriptores sensoriales que permitieron caracterizar el producto mamón en almíbar. Se demostró que existe correlación entre los atributos sensoriales y las medidas instrumentales relacionados a las propiedades mecánicas y el color. En base ello, el análisis sensorial permitió establecer características organolépticas de papaya en almíbar y diferenciar el efecto del pretratamiento con gluconato y con lactato de Ca sobre la calidad final del producto, tanto inmediatamente después de la cocción como luego de una semana de almacenamiento. Los resultados señalan que las sales de calcio empleadas no imparten sabores extraños al producto pero tienen diferente efecto sobre los atributos "firmeza" y "sabor a mamón fresco". Se observa un efecto protector del Ca sobre la pérdida de peso y el volumen. En cambio, el contenido de carotenos disminuyó drásticamente durante la cocción en almíbar y el almacenamiento, pero no se registraron diferencias significativas entre las muestras tratadas con diferentes sales de calcio. En el test de ordenamiento por preferencia los evaluadores ubicaron en primer lugar el producto pre-tratado por 4 hs en solución de gluconato de calcio, agregando que éste es el que retiene en mayor medida las características sensoriales de la fruta fresca.

BIBLIOGRAFÍA

- De Almeida Melo E, Arroxelas Galvão de Lima VL, Sucupira Maciel MI, Da Silva Caetano AC, Lemos Leal FL. 2006. Polyphenol, Ascorbic Acid and Total Carotenoid Contents in Common Fruits and Vegetables. *Brazilian Journal of Food Technology*, 9: 89-94.
- Jaeger de Carvalho LM, Barros Gomes P, De Oliveira Godoy RL, Pacheco S, Henrique Fernandes do Monte P, Viana de Carvalho JL, Regini Nutti M, Lima Neves AN, Rodrigues Alves Vieira AC, Rabelo Ramalho Ramos S. 2012. Total carotenoid content. α -carotene and β -carotene. of landrace pumpkins (*Cucurbita moschata* Duch): A preliminary study. *Food Research International*, 47: 337-340.
- Lovera NN, Buceta NN, Salvadori VO. 2011. Efecto del pretratamiento con sales de calcio sobre las propiedades nutricionales. de textura y color del mamón (*Carica papaya* L.). Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos. CYTAL. Buenos Aires. Argentina.
- Lovera NN; Ureta M M; Olivera, DF. 2011. Determinación de indicadores de calidad físicos y sensoriales de mamón en almíbar. Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos. CYTAL. Buenos Aires. Argentina.
- Murador DC, Cunha DT, Rosso VV. 2014. Effects of cooking techniques on vegetable pigments: A meta-analytic approach to carotenoid and anthocyanin levels. *Food Research International*, In press, Doi: 10.1016/j.foodres.2014.06.015
- Murray JM, Delahunty CM, Baxter IA. 2001. Descriptive sensory analysis: past, present and future. *Food Research International*, 34: 461-471.

Sato ACK, Sanjinéz-Argandoña EJ, Cunha RL. 2006. The effect of addition of calcium and processing temperature on the quality of guava in syrup. *International Journal of Food Science and Technology*, 41: 417–424.

Schweiggert RM, Björn Steingass C, Mora E, Esquivel P, Carle R. 2011. Carotenogenesis and physico-chemical characteristics during maturation of red fleshed papaya fruit (*Carica papaya* L.). *Food Research International*, 44: 1373-1380.

Shamaila M, Powrie WD, Skura BJ. 1992. Sensory Evaluation of Strawberry Fruit Stored under Modified Atmosphere Packaging (MAP) by Quantitative Descriptive Analysis, 57: 1168–1184.

Statgraphics. Centurion XV. Statpoint Technologies. Inc. Warrenton VA. U.S.A. 2009.

Stone H, Sidel JL, Oliver S, Woolsey A, Singleton RC. 1974. Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. *Food Technology*, 28:24-34.

Zuhair R A, Aminah A, Sahilah AM, Eqbal D. 2013. Antioxidant activity and physicochemical properties changes of papaya (*Carica papaya* L. cv. Hongkong) during different ripening stage. *International Food Research Journal*, 20: 1653-1659.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se financió con fondos provenientes de ANPCYT (PICT 2013-1637), UNLP (111183) y CONICET.

CARACTERIZACIÓN SENSORIAL Y REOLOGICA DE QUESO POR SALUT ARGENTINO

Palatnik D.¹, Montero H.², Aranibar G.², Pino F.²

1: Universidad Nacional de San Luis, Ejercito de Los Andes 950 - D5700HHW - San Luis - Argentina.

2: Instituto Nacional de Tecnología Industrial. Av Gral Paz 5445 - B1650KNA - San Martín - Argentina.

dianapalat@gmail.com

aranibar@inti.gob.ar

Resumen: El Por Salut es un queso de origen francés y su área de producción, en la Argentina, es la región pampeana. Generalmente se presenta en el mercado en hormas de forma cilíndrica achatada de 3,5 kg. Su contenido de materia grasa varía entre 45% y 59,9% y el contenido de humedad se encuentra entre 46% a un 54,9%. Debido a la popularidad de este queso se realizó este estudio para caracterizar los atributos de textura y flavor a partir de métodos sensoriales y reológicos. Se analizaron 5 muestras comerciales de queso Por Salut (PS) argentino, obtenidas en diferentes bocas de expendio. Todas las muestras se encontraban dentro del período de consumo óptimo, entre 20 y 50 días y con fecha de vencimiento similar. Para el Análisis sensorial se empleó un panel integrado por 10 personas no videntes y disminuidas visuales pertenecientes al INTI-Lácteos. Para la confección de los perfiles de textura y flavor se utilizó la técnica QDA (Análisis Descriptivo Cuantitativo). Se emplearon escalas continuas crecientes de 1 a 7 para expresar la intensidad percibida en cada uno de los 13 descriptores analizados. Para la

determinación de los parámetros reológicos se realizó un ensayo de penetración a velocidad constante por medio de un analizador de textura modelo TAXT Plus de Stable MicroSystems utilizando una sonda de 5mm. Los resultados obtenidos fueron evaluados estadísticamente por el método de comparación múltiple de Tukey-Kramer y se utilizó el T.test, asumiendo que un $P < 0.05$ es estadísticamente significativo. El programa estadístico utilizado fue el "GraphPad InStat". Además se realizaron los Análisis de Componentes Principales (PCA) y de Conglomerados (AC) por medio del programa "Infostat". Quedan evidenciados 2 conglomerados de muestras, un conglomerado caracterizado por presentar mayor gusto salado, ácido, solubilidad, adherencia y adhesión, mientras que el otro presenta mayor módulo de deformabilidad, firmeza, energía de penetración, elasticidad y esfuerzo máximo. Las mediciones realizadas sensorialmente e instrumentalmente resultan coincidentes para los valores de textura. Este trabajo puede servir de base para futuros estudios de caracterización del queso Por Salut Argentino y para la estandarización de la producción en las empresas que lo elaboran. Es necesario continuar los estudios incrementando el número de muestras.

Palabras clave: Queso Por Salut, caracterización sensorial, reología

Abstract: Por Salut cheese is a traditional french cheese that is produced in Argentina. Its fat content varies between 45% and 59.9% and its moisture between 46% and 54.9%. This study was conducted to characterize the texture and flavor of 5 commercial Argentinian Por Salut cheese samples (PS) that were bought at different supermarkets. The Quantitative Descriptive Analysis

(QDA) technique was used to describe the intensity of 13 attributes of texture and flavor. Rheological parameters were determined by a penetration test at constant speed, using a 5 mm probe. The results were statistically evaluated by the method of multiple comparison Tukey-Kramer and t.test, assuming a $P < 0.05$, as statistically significant.

Principal Component Analysis (PCA) and Cluster Analysis (AC) were performed by the "Infostat" program. There are two clusters, one characterized by an increased saltiness, acidity, solubility, sensory adhesiveness and stickiness, while the other presents greater deformability modulus, strain, work at penetration, and maximum elasticity. The values of sensory and instrumental texture measurements are coincident. Analyzed cheeses show similar flavor profiles. More attributes were observed, in texture profile, with significant differences. This work can be useful for further characterization studies of the Argentinian Por Salut cheese and production standardization for the companies that make it. It is necessary to continue studying this cheese by increasing the number of samples.

Key words: Por Salut cheese, sensory characterization, rheology

INTRODUCCIÓN

El Por Salut es un queso de origen francés que fue elaborado por primera vez en la abadía de Notre - Dame du Port – du – Salut. Su popularidad se extendió rápidamente por toda Francia y muchas queserías comenzaron a elaborarlo con el nombre Queso Saint – Paulin. Los inmigrantes europeos introdujeron este queso en Argentina, conocido con el nombre de Saint Paulin o Port Salut.

En la actualidad su área de producción es la región pampeana y se elabora durante todo el año. Generalmente se presenta en el mercado en hormas de forma cilíndrica achatada de 3,5 kg y también se comercializan trozados en 1/2 horma, 1/4 de horma o más pequeños (www.quesosargentinos.gob.ar). Es elaborado a partir de leche entera o estandarizada, acidificada con cultivo de bacterias lácticas y coagulada por cuajo y/o enzimas específicas (Código Alimentario Argentino). Su contenido de materia grasa varía entre 45% y 59,9% y el contenido de humedad se encuentra entre 46% a un 54,9%.

Debido a la popularidad de este queso en nuestro país y a la falta de información sobre sus características sensoriales se realizó este estudio cuyo objetivo fue caracterizar los atributos de textura y flavor a partir de métodos sensoriales y reológicos. (Montero *et al.*, 2005^a)

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras

Para el presente estudio se utilizaron 5 muestras comerciales de queso Por Salut (PS) argentino, obtenidas en diferentes bocas de

expendio Todas las muestras se encontraban dentro del período de consumo óptimo, entre 20 y 50 días y con fecha de vencimiento similar (± 5 días de diferencia entre muestras). Durante el período de análisis las hormas se conservaron a $5 \pm 1^\circ\text{C}$.

Análisis sensorial

Se empleó un panel integrado por 10 personas no videntes y disminuidos visuales pertenecientes al INTI-Lácteos, el cual fue seleccionado y entrenado según las Normas IRAM 20001/20002/20004/20005 y 20006.

Para la determinación de los perfiles de textura y flavor se utilizó la técnica QDA (Análisis Descriptivo Cuantitativo) contemplada en las Normas IRAM 20012 y 20013

Para el análisis del *perfil de textura* se utilizaron las definiciones y procedimientos indicados en las técnicas armonizadas propuestas por el grupo de análisis sensorial del Programa FLAIR (COST 902 de la Unión Europea (Lavanchy *et al.*, INRA 1994).

Se determinaron los siguientes descriptores (Norma IRAM 20001):

- Elasticidad* Aptitud de la muestra de queso para recuperar rápidamente su espesor inicial después de haber sido comprimida y deformada.
- Firmeza* Resistencia que presenta la muestra a un pequeño desplazamiento de las mandíbulas.
- Friabilidad* Aptitud que presenta la muestra para generar numerosos trozos desde el principio de la masticación.
- Adherencia* Trabajo que es necesario realizar con la lengua

para despegar un producto pegado en el paladar y los dientes.

Solubilidad Sensación que se pone de relieve cuando la muestra funde muy rápidamente en la saliva luego de masticarla 4 veces.

Impresión de humedad Percepción del contenido de humedad de un alimento por medio de los receptores táctiles en la boca. La propiedad de textura de superficie describe la percepción del agua absorbida o liberada de un producto.

Para el análisis del *perfil de flavor* se utilizaron las definiciones y procedimientos indicados en las técnicas armonizadas propuestas por el grupo de responsables del análisis sensorial en el marco del Programa AIR-CT 94-2039 (Bérodier *et al.*, 1996). Se evaluaron los siguientes descriptores (Norma IRAM 20001):

Intensidad del olor Mide la intensidad de la sensación percibida por medio del órgano olfatorio al oler ciertas sustancias volátiles.

Intensidad del aroma Mide la intensidad de la sensación percibida por el órgano olfatorio vía retronasal durante la degustación.

Gusto salado Es el gusto básico producido por soluciones acuosas diluidas de varias sustancias como el cloruro de sodio.

Gusto dulce Es el gusto básico producido por soluciones acuosas diluidas de sustancias naturales o artificiales como la sacarosa.

Gusto ácido Es el gusto básico producido por soluciones acuosas diluidas de la mayoría de las sustancias

ácidas (por ejemplo, ácidos cítrico y tartárico).

Regusto o gusto residual Es la sensación olfativa y/o gustativa que ocurre luego de la eliminación del producto y difiere de la sensación percibida mientras el producto estaba en la boca.

Persistencia global Relativo a la respuesta a un estímulo asociado con un periodo medible de tiempo

Se emplearon escalas continuas crecientes de 1 a 7 para expresar la intensidad percibida en cada descriptor, utilizando las referencias indicadas en cada guía mencionada.

Los panelistas trabajaron en forma individual, analizando por triplicado un número de 2 muestras por sesión, las mismas fueron presentadas dentro de una placa de Petri cerrada, cortadas en forma de paralelepípedo de 2 cm x 2cm de sección y cuya longitud de 5 cm. Antes de realizar el análisis, las muestras fueron estabilizadas durante 1 hora a $14 \pm 2^\circ\text{C}$.

Reología

Para la determinación de los parámetros reológicos se realizó un ensayo de penetración a velocidad constante por medio de un analizador de textura modelo TAXT Plus de Stable MicroSystems utilizando una sonda de 5mm "P/5". (Hennequin & Ardí, 1993). El queso es penetrado hasta una profundidad de 10 mm a una velocidad de desplazamiento constante de 0,8 mm/s.

Las muestras fueron estabilizadas a una temperatura de $14 \pm 2^\circ\text{C}$ (FIL 205:2003) y fueron ensayadas sucesivamente en la parte central, extremos, costados y base según se ejemplifica en la Figura 1.

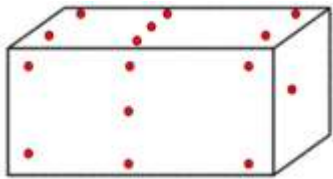


Figura 1: Puntos de penetración sobre la muestra con la sonda P/5.

A partir de las curvas de Fuerza vs Tiempo obtenidas de los diferentes sectores del queso (Boletín FIL 268, 1991), se pudieron calcular los siguientes parámetros tal como se presentan en la Figura 2 (Castañeda, 2002).

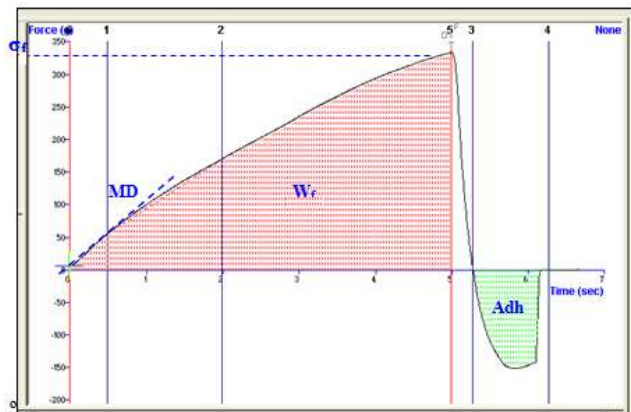


Figura 2: Curva tipo de ensayo de penetración.

Módulo de deformabilidad o parte lineal de la curva. Se calcula midiendo la pendiente de la

(MD):

Esfuerzo máximo Es el pico máximo de la curva y representa

(σ_f): la fuerza alcanzada al final de la penetración.

Energía a la penetración (W_f): Es el área por debajo de la curva y representa el trabajo necesario para realizar la penetración.

Adhesión (Adh): Es la fuerza que resiste la separación de dos cuerpos que están en contacto, en este caso, la fuerza que resiste la separación entre la probeta y la muestra de queso. Está representada por el área negativa que se observa en el gráfico.

Análisis estadístico de resultados

Los datos obtenidos fueron evaluados estadísticamente por el método de comparación múltiple de Tukey-Kramer y se utilizó el T.test, asumiendo que un $P < 0.05$ es estadísticamente significativo (SAS 1989). El programa estadístico utilizado fue el "GraphPad InStat". Además se realizaron los Análisis de Componentes Principales (PCA) y de Conglomerados (AC) por medio del programa "Infostat".

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Método sensorial- Perfil de textura

En la **Tabla 1** se presentan los resultados obtenidos para el perfil de textura sensorial. Se observaron diferencias significativas en 4 de los 6 atributos analizados. El panel pudo discriminar hasta tres grupos de muestras diferentes.

Tabla 1: Método sensorial-Perfil de textura (media±SD)

Muestra	Elasticidad	Firmeza	Friabilidad	Adherencia	Solubilidad	Impresión de humedad
PS1	3,3±0,7 ^{ab}	3,0±0,8 ^a _b	2,5±0,5 ^a	2,1±0,6 ^a	3,7±0,7 ^a	3,6±0,5 ^a
PS2	2,2±0,5 ^c	2,6±0,5 ^a _b	2,2±0,7 ^a	3,5±0,5 ^b	4,5±0,5 ^{bc}	3,6±0,5 ^a
PS3	2,9±0,6 ^{bc}	3,2±0,5 ^a	2,4±0,7 ^a	2,5±0,5 ^a	3,7±0,5 ^a	3,4±0,5 ^a
PS4	2,4±0,5 ^c	2,2±0,5 ^b	1,7±0,5 ^a	4,0±0,5 ^b	4,9±0,3 ^c	4,0±0,9 ^a
PS5	3,9±0,6 ^a	3,1±0,6 ^a	2,5±0,5 ^a	2,5±0,5 ^a	3,9±0,3 ^{ab}	3,2±0,5 ^a
Media	2,9±0,7	2,8±0,4	2,3±0,3	2,9±0,8	4,1±0,5	3,6±0,3

*Para cada atributo las muestras con igual letra (a,b,c) no presentan diferencias significativas entre ellas ($\alpha=0,05$)

En la **Figura 3** se presenta el perfil de textura sensorial promedio del queso Por Salut argentino considerando un intervalo de confianza del 95%

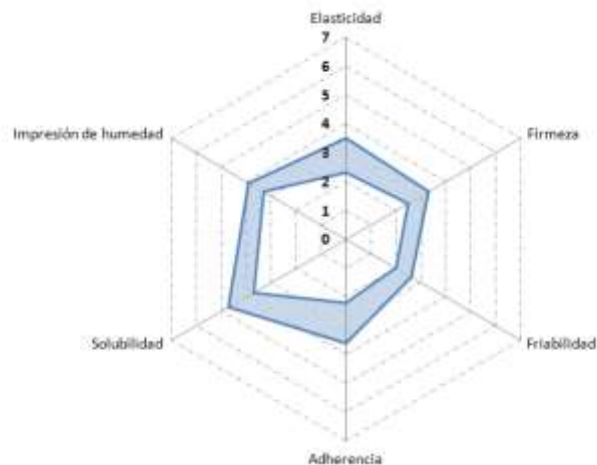


Figura 3: Perfil de Textura promedio del queso Port Salut argentino. Intervalo de confianza del 95%

Método sensorial: Perfil de flavor

En la **Tabla 2** se presentan los resultados que se obtuvieron por medio del panel sensorial para los descriptores de flavor. Se observaron diferencias significativas en 2 de los 7 atributos analizados. El panel pudo discriminar hasta dos grupos de muestras diferentes.

Tabla 2: Método sensorial-Perfil de flavor (media ±SD)

Muestra	Intensidad del olor	Intensidad del aroma	Gusto salado	Gusto ácido	Gusto dulce	Gusto amargo	Persistencia global
PS1	2,4±0,7 ^a	2,4±0,5 ^a	2,1±0,6 _b	2,2±0,7 _{ab}	1,1±0,3 ^a	1,7±0,7 ^a	1,5±0,5 ^a
PS2	3,0±0,5 ^a	3,2±0,9 ^a	3,2±0,5 _{ab}	3,1±0,6 _a	1,0±0,1 ^a	2,1±0,6 ^a	2,0±0,5 ^a
PS3	3,0±0,5 ^a	2,7±0,7 ^a	2,6±0,7 _{ab}	2,2±0,9 _{ab}	1,0±0,1 ^a	1,5±0,5 ^a	1,9±0,6 ^a
PS4	2,5±0,5 ^a	2,4±0,7 ^a	3,4±0,5 _a	2,4±0,5 ^{ab}	0,7±0,5 ^a	1,9±0,8 ^a	1,6±0,5 ^a
PS5	2,5±0,5 ^a	2,5±0,5 ^a	2,5±0,5 _b	1,6±0,5 _b	1,1±0,3 ^a	1,6±0,5 ^a	1,4±0,5 ^a
Media	2,7±0,3	2,6±0,3	2,8±0,5	2,3±0,5	1,0±0,2	1,8±0,2	1,7±0,3

*Para cada atributo las muestras con igual letra (a,b) no presentan diferencias significativas entre ellas ($\alpha=0,05$)

En la **Figura 4** se presenta el perfil de flavor sensorial promedio del queso Por Salut argentino considerando un intervalo de confianza del 95%

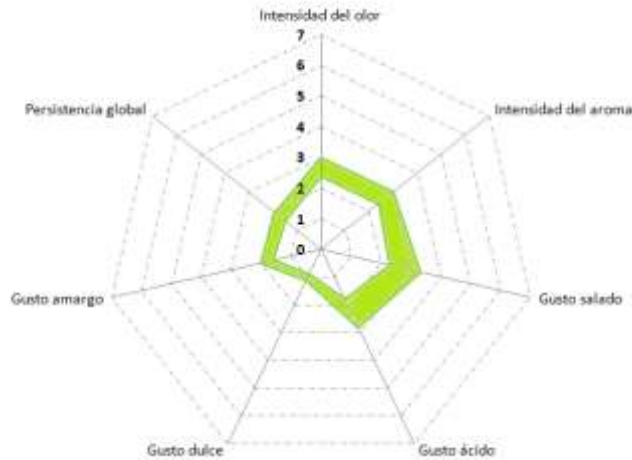


Figura 4: Perfil de Flavor promedio del queso Por Salut argentino. Intervalo de confianza del 95%

Perfil de textura-Método reológico

En la **Tabla 3** se presentan los valores obtenidos utilizando el analizador de textura. Se observaron diferencias significativas en los 4 atributos analizados. El equipo pudo discriminar hasta tres grupos de muestras diferentes.

Tabla 3: Método reológico-Perfil de textura (media±SD)

Muestra	Esfuerzo máximo (g)	Modulo de deformabilidad (g/s)	Adhesión (g.s)	Energía a la penetración (g.s)
PS1	228±50a	30±8a	-(50±17b)	1330±296a
PS2	134±36b	19±8b	-(50±21b)	826±264b
PS3	239±35a	36±6a	-(101±20a)	1505±250a
PS4	82±24c	10±4c	-(31±10b)	499±150c
PS5	251±27a	33±5a	-(86±24a)	1475±177a
Media	187±75	26±11	-64±29	1127±444

*Para cada atributo las muestras con igual letra (a,b,c) no presentan diferencias significativas entre ellas ($\alpha=0,05$)

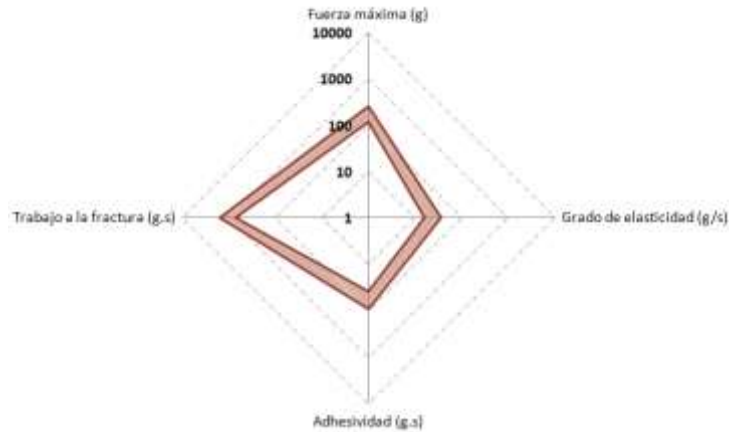


Figura 5: Perfil de textura promedio obtenido mediante método reológico de queso Port Salut argentino. Intervalo de confianza del 95%

Para complementar y agrupar los resultados sensoriales e instrumentales presentados anteriormente se procedió a realizar análisis multivariados de conglomerados (AC) y componentes principales (PCA), (Ares G, 2013). Para realizar estos análisis estadísticos no se tuvieron en cuenta los descriptores en los cuales los panelistas no encontraron diferencias significativas entre muestras. En la **Figura 6** se presenta el dendrograma obtenido a partir del AC que agrupa las muestras en 2 conglomerados en función de la distancia Euclídea. El primer conglomerado formado por las muestras PS2 - PS4 y el otro compuesto por PS1-PS3-PS5. Se obtuvo una correlación cofenética= 0,972

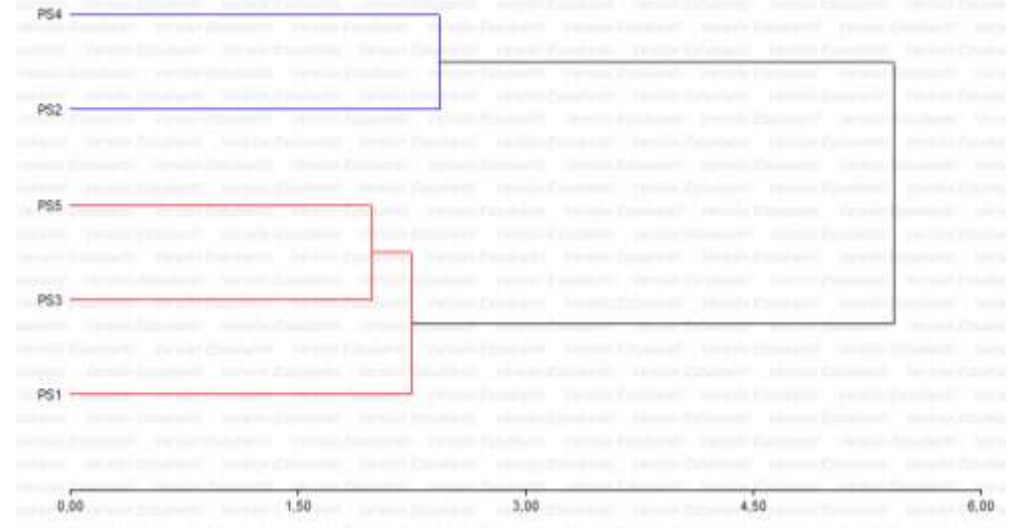


Figura 6: Análisis de Conglomerados. Dendrograma. Distancia Euclídea

En las **Figuras 7 y 8** se presentan los componentes principales (CP1/CP2 y CP1/CP3 respectivamente). En ambas figuras se pudo explicar aproximadamente el 90% de la variación total. Quedan evidenciados 2 conglomerados de muestras, el primero formado por PS2-PS4 y el segundo formado por PS1-PS3-PS5. En el CP1/CP2 el conglomerado PS2-PS4 se caracteriza por presentar mayor gusto salado, ácido, solubilidad, adherencia y adhesión (ADH); mientras que el conglomerado PS1-PS3-PS5 presenta mayor módulo de deformabilidad (MD), firmeza, energía de penetración (W_f), elasticidad y esfuerzo máximo (σ_f).

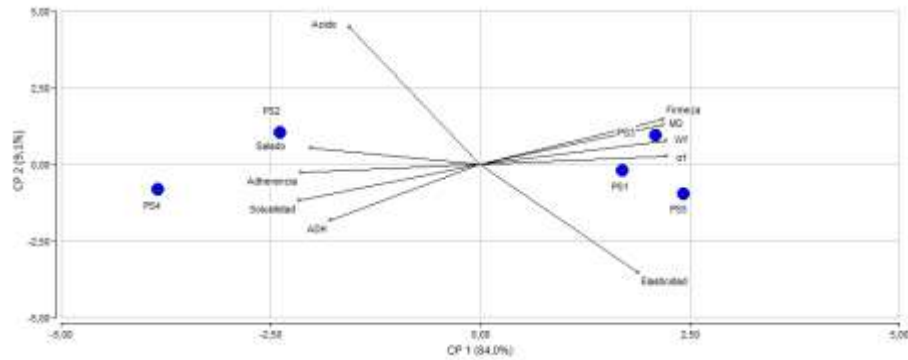


Figura 7: Análisis de componentes principales. CP1 y CP2

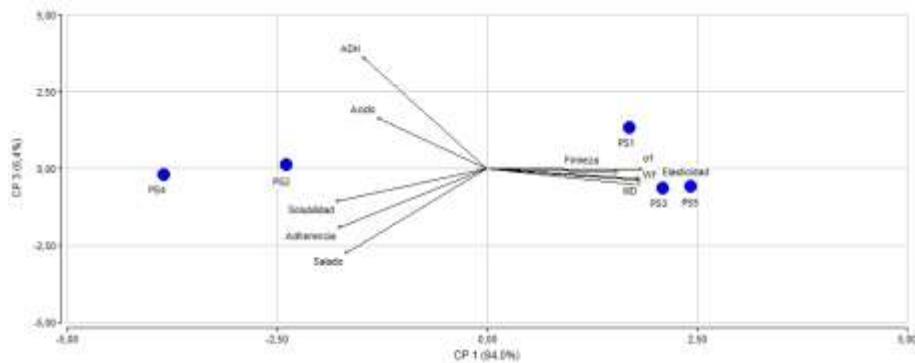


Figura 8: Análisis de componentes principales. CP1 y CP3

En la **Tabla 4** se verificaron buenos coeficientes de correlación entre parámetros de textura sensorial e instrumental, como se observa en: Firmeza/Esfuerzo máximo 0,98; Firmeza/Módulo y Firmeza/Energía 0,99; no así en Adherencia/Adhesión: 0,62. Esto indica que la firmeza de los quesos es percibida de igual forma por el panel que por el instrumento (Montero et al., 2005^b).

También se encontraron buenos coeficientes de correlación entre distintos descriptores sensoriales de flavor y textura: Elasticidad/Ácido: -0,91, lo cual se podría deber a cuestiones tecnológicas de elaboración.

Tabla 4: Matriz de correlación

Matriz de correlación/Coeficientes*											
	Elasticidad	Firmeza	Adherencia	Solubilidad	Salado	Ácido	Amargo	Esfuerzo máx.	Módulo	Adhesión	Energía
Elasticidad	1										
Firmeza	0,72	1									
Adherencia	-0,77	-0,85	1								
Solubilidad	-0,71	-0,97	0,98	1							
Salado	-0,79	-0,85	0,98	0,94	1						
Ácido	-0,91	-0,55	0,78	0,54	0,59	1					
Amargo	-0,74	-0,79	0,75	0,79	0,71	0,83	1				
Esfuerzo máx.	0,83	0,98	-0,95	-0,97	-0,9	-0,67	-0,82	1			
Módulo	0,72	1	-0,92	-0,97	-0,84	-0,58	-0,82	0,98	1		
Adhesión	0,54	0,86	-0,62	-0,73	-0,48	-0,52	-0,78	0,81	0,87	1	
Energía	0,78	0,99	-0,94	-0,97	-0,87	-0,63	-0,83	1	1	0,87	1

Matriz de correlación/Probabilidades*											
	Elasticidad	Firmeza	Adherencia	Solubilidad	Salado	Ácido	Amargo	Esfuerzo máx.	Módulo	Adhesión	Energía
Elasticidad											
Firmeza	0,1744										
Adherencia	0,134	0,0236									
Solubilidad	0,1792	0,0061	0,0029								
Salado	0,114	0,0713	0,0025	0,0198							
Ácido	0,0313	0,3384	0,3973	0,3714	0,2913						
Amargo	0,1506	0,1111	0,1447	0,1124	0,1823	0,0828					
Esfuerzo máx.	0,0837	0,0026	0,0119	0,0089	0,0382	0,2206	0,0898				
Módulo	0,1664	0,0001	0,0258	0,0066	0,0743	0,3067	0,0874	0,0025			
Adhesión	0,3489	0,0808	0,263	0,1174	0,4097	0,3714	0,12	0,0984	0,0226		
Energía	0,1196	0,0005	0,0188	0,0064	0,0173	0,2524	0,0803	0,0004	0,0003	0,0665	

**Los descriptores diferenciados en color azul pertenecen al grupo de descriptores sensoriales, mientras que los de color gris, pertenecen al grupo de descriptores instrumentales.*

CONCLUSIONES

Haciendo un análisis comparativo de los datos de textura obtenidos sensorialmente y los obtenidos por el método instrumental podríamos concluir que hay coincidencia entre ambos métodos.

El perfil de flavor es similar en los quesos estudiados, mientras que el perfil de textura presenta mayores diferencias.

Este trabajo puede servir de base para futuros estudios de caracterización del queso Por Salut Argentino y para la estandarización de la producción en las empresas que lo elaboran. Es necesario continuar los estudios incrementando el número de muestras.

BIBLIOGRAFIA

- Ares G. (2013). Nuevas Metodologías en la Caracterización Sensorial de Alimentos. Curso teórico-práctico dictado en INTI.
- Bérodier, F., Lavanchy, P.; Zannoni M., Casals, J., Herrero, L., Admao, C. (1996). "Guía para la Evaluación olfato-gustativa de los quesos de pasta dura y semidura", INRA.
- Bulletin of the International Dairy Federation. FIL-IDF N°268 (1991). Rheological and Fracture Properties of Cheese.
- Castañeda R. (2002). La reología en la caracterización y tipificación de quesos. Tecnología Láctea Latinoamericana N°26. Código Alimentario Argentino, Capítulo VIII, "Alimentos Lácteos", Artículo 625.
- Hennequin D y J. Ardí. (1993) Evaluation Instrumentale et Sensorielle de Certaines Propriétés texturales de fromages a pate molle. Int. Dairy Journal 3 635-647.
<http://www.quesosargentinos.gov.ar/paginas/ficha1.asp?id=12>
<http://www.infostat.com.ar>
- ISO TC 34/SC5N/ ISO /CD 17996/IDF 205 (2003). Cheese Determination of rheological properties by uniaxial compression at constant displacement rate.
- Lavanchy, P.; Bérodier, F.; Zannoni M.; Noel, Y.; Adamo, C.; Squella, J.; Herrero, L., (1994). Guide d'évaluation sensorielle de la texture des fromages a pate dure ou semidure, INRA.
- Montero, H., Aranibar, G., Cañameras, C., & Castañeda, R. (2005)^a. Metodología para la caracterización sensorial de quesos argentinos. Jornadas de Análisis Sensorial (JASLIS).

Montero, H., Aranibar, G., Cañameras, C., & Castañeda, R. (2005)^b. La textura del Queso Goya. Comparación entre el método sensorial y métodos reológicos. Jornadas INTI.

Moskowitz, H. (1983) Descriptive analysis of perceptions. Product testing and sensory evaluation of foods. Food Nutrition Press, Westport, CT, Estados Unidos.

Norma IRAM 20001:2012 ISO 5492:2008, Análisis Sensorial, Vocabulario.

Norma IRAM 20004, Análisis sensorial. Metodología. Método de investigación de la sensibilidad del gusto.

Norma IRAM 20005-1:1996, Guía general para la selección, entrenamiento y seguimiento de los evaluadores.

Norma IRAM 20006:2004. Análisis sensorial. Metodología. Iniciación y entrenamiento de los evaluadores en la detección y reconocimiento de olores.

Norma IRAM 20012:1997. Análisis sensorial: Métodos para determinar el perfil del flavor.

Norma IRAM 20013: 2001. Análisis Sensorial Metodología

SAS USER GUIDE: Statistic. Versión (1989). SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA.

AGRADECIMIENTO

A la memoria del Lic Roberto Castañeda, director del INTI Lácteos y promotor de los trabajos de caracterización de quesos argentinos.

EFECTO DEL PH EN EL HILADO DE LA MOZZARELLA DE CABRA Y LAS CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DEL PRODUCTO FINAL

Paz N.F.¹, Armada M.¹, Ramón A.N.²

1: INIQUI -CONICET- Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de Salta, Argentina.

2: Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Salta, Argentina.

nonipaz@outlook.com

Resumen: El objetivo del trabajo fue determinar, en el queso mozzarella a partir de leche de cabra, el pH óptimo del suero, en el cual la masa esté lista para hilarse. Se trabajó con leche de cabra pasteurizada, cloruro de calcio, bacterias lácticas: *Streptococcus thermophilus* (StM7) y *Lactobacillus helveticus* (LhB02) y quimosina. El pH de 5,6, 5,3 y 5,0 se alcanzó a los 95, 105 y 120 minutos, respectivamente. Se procedió al amasado e hilado de la masa, se les dio forma redonda y se sumergió en salmuera fría. A pH 5,6 se utilizó mayor tiempo y temperatura de hilado (96°C), dando un producto de baja humedad (43,46%), calcio (200,57 mg%) y rendimiento quesero (7,23%); a pH 5,0 el hilado no ocurrió, posiblemente por una excesiva desmineralización de la masa y desnaturalización de las proteínas, y a pH 5,3 se requirió menor tiempo y temperatura de amasado (65-70°C), logrando obtener un producto de color blanco brillante, pasta blanda, con mayor contenido de humedad (50,06%) y calcio (635,83 mg%), buen rendimiento quesero

(16,80%). Se concluye que a pH de suero 5,3 la masa está lista para hilarse, por lo tanto sería el indicado para obtener un QMLC de adecuadas características químicas.

Palabras clave: Leche de cabra, mozzarella, pH.

Abstract: The aim of this study was to determined on mozzarella cheese from goat's milk, the optimum pH of the serum, in which the dough is ready to be spun. We worked with pasteurized goat's milk, calcium chloride, lactic acid bacteria: *Streptococcus thermophilus* (StM7) and *Lactobacillus helveticus* (LhB02) and chymosin. The pH of 5.6, 5.3 and 5.0 was reached at 95, 105 and 120 minutes, respectively. We proceeded to kneading dough and spinning were given round and plunged into cold brine. At pH 5.6 more time and spinning temperature (96 ° C) was used, giving a low-moisture (43.46%), calcium (200.57 mg%) and cheese yield (7.23%); at pH 5.0 the yarn did not occur, possibly by excessive demineralization of mass and protein denaturation, and pH 5.3 was required less time and kneading temperature (65-70 ° C), obtaining a product white bright, soft paste with higher moisture content (50.06%) and calcium (635.83 mg%), and higher cheese yield (16.80%). It is concluded that at pH 5.3 the mass serum would be ready for spun therefore be specified to obtain a suitable QMLC chemical characteristics.

Keywords: Goat milk, mozzarella, pH.

INTRODUCCIÓN

Económicamente la producción lechera caprina tiene gran importancia en la región noroeste de la Argentina, donde se localizan el 60% de los animales dedicados a esta producción, mientras que el 40% restante se encuentra ubicado en el resto del país (Oliszewski *et al.* 2002). Se estiman 2 millones de litros de leche con un total de 200 productores. La disponibilidad per cápita promedio en nuestro país es de 80 cm³ y en Salta asciende a 233 cm³. Además, de las 30 plantas elaboradoras de queso registradas en el país, el 70% se ubica en el NOA (Sexto Foro Federal de la Industria, 2007).

La leche de cabra como sustituto de la tradicional leche de vaca ha comenzado a merecer la atención de gobiernos y entidades privadas. La misma se destaca por su contenido en vitamina A, vitamina B2, las características de las proteínas y la mayor digestibilidad debido al tamaño pequeño de los glóbulos de grasa, facilitando la actividad de las enzimas digestivas e intestinales, y contribuyendo a que un 20 % de los ácidos grasos formados sean de cadena corta (Paz *et al.* 2014). Es decir, el interés en estos productos radica en su potencialidad para ser consumidos por grupos que presentan intolerancia a los lácteos de origen bovino.

Por otro lado, la elaboración de queso mozzarella se plantea, en nuestra región, como alternativa estratégica de expansión para la

industria láctea, además de poder ser utilizado en una gran variedad de preparaciones dietoterápicas.

Varios estudios han informado los efectos de diferentes parámetros en los procesos de producción, sobre las características fisicoquímicas de los quesos mozzarella elaborados a partir de leche de vaca (Yun *et al.* 1993; Joshi *et al.* 2002, 2004) y/o mezclas de leches (Hussain, Grandison & Bell, 2012); sin embargo, no se registran estudios relacionados a la producción de quesos mozzarella que utilicen sólo leche de cabra. Con respecto a esto, el desarrollo de la tecnología adecuada para la producción de quesos innovadores, encaminados a la obtención de productos con características apropiadas, es de particular interés. El objetivo de este trabajo fue determinar, en el queso mozzarella a partir de leche de cabra (QMLC), el pH óptimo del suero, en el cual la masa ya esté lista para hilarse, y la influencia de éste aspecto en particular sobre la composición química del producto final.

MATERIALES Y MÉTODOS

Composición química de las muestras de leche

En las muestras de leche se determinaron: pH con peachímetro manual digital marca Hanna, Acidez Dornic por titulación (AOAC, 1996), prueba de azul de metileno (AOAC, 1996), humedad por desecación en estufa (AOAC, 1996), hidratos de carbono por

diferencia de sólidos totales menos otros componentes sólidos [100 - (humedad + proteína + grasa + cenizas)], proteínas por formol (Egan, 1991), grasas por Gerber (AOAC, 1996), cenizas por calcinación en mufla (AOAC, 1996), fósforo por espectrofotometría de absorción molecular (AOAC, 1996), calcio por espectrofotometría de absorción atómica (AOAC, 1996).

Elaboración de los quesos mozzarella

Se trabajó con 5 litros de leche de cabra entera pasteurizada; cultivos de bacterias lácticas liofilizadas de inoculación directa: *Streptococcus thermophilus* (St M7) y *Lactobacillus helveticus* (Lh B02), coagulante quimosina 100% (Chr Hansen); cloruro de calcio y cloruro de sodio.

A partir de la leche de cabra entera pasteurizada, se elaboró el queso siguiendo las etapas de la **Figura 1**. Se adicionó CaCl_2 para favorecer la gelificación de la leche, mejorando el proceso de fabricación del queso y/o aumentando su rendimiento. Al mismo tiempo, ayuda a la rápida coagulación debido al efecto combinado del aumento de la actividad de los iones de calcio y una caída en el pH de la leche. Generalmente, se utiliza una concentración de entre 0,01-0,02 g% (Ong *et al.*, 2014). En Estados Unidos la legislación vigente limita su adición a 0,02 g% (Federal Register, 1982), al igual que el Código Alimentario Argentino, e inclusive el Codex Alimentarius no lo especifican. Se incorporaron las bacterias lácticas (inoculación): St M7/Lh B02 en una relación 1:1,5, es decir 0,010%:0,015%. La concentración fue

elegida en base al menor tiempo de inoculación registrado para alcanzar un pH de 6,6. La Fermentación o Incubación se realizó en estufa a una temperatura de 37 ± 1 °C. Se dejó madurar controlando el tiempo que tardó en alcanzar un pH de 6,6. Transcurrido el tiempo de maduración, se adicionó la enzima coagulante quimosina al 100% (Chr Hansen) en la máxima concentración sugerida por el fabricante: 0,003%. La coagulación ocurrió a los 25 – 30 minutos aproximadamente. Se procedió al corte de la cuajada en un tamaño de 2 x 2 x 2 cm, es decir, cuadrados grandes para favorecer la retención de humedad, necesario en este tipo de quesos de pasta blanda a muy blanda. Se procedió al desuerado parcial, y reposo de la masa bajo suero hasta obtener un valor de pH que permita, posteriormente, el posible hilado y amasado de la cuajada. En este estudio se pusieron a prueba tres puntos de pH: 5,6 (MC56), 5,3 (MC53) y 5,0 (MC50). Este paso es esencialmente importante ya que, al descender el pH, el fosfato de calcio coloidal, ligado a la caseína y a la para κ -caseína que forman la red de la cuajada, se vuelve soluble y migra hacia la fase acuosa (sérica), dejando la matriz estructural parcialmente desmineralizada (Villegas de Gante, 2003). Posteriormente, se sumergió la masa en agua caliente y se hiló hasta obtener una pasta elástica y fibrosa. El hilado tiene gran impacto sobre la composición química y el rendimiento del queso. Finalizado el hilado, el queso caliente se sumergió en salmuera fría (4 - 6 °C) para cortar con la cocción, en una concentración de 20 % NaCl p/v, por un tiempo de 30 minutos.

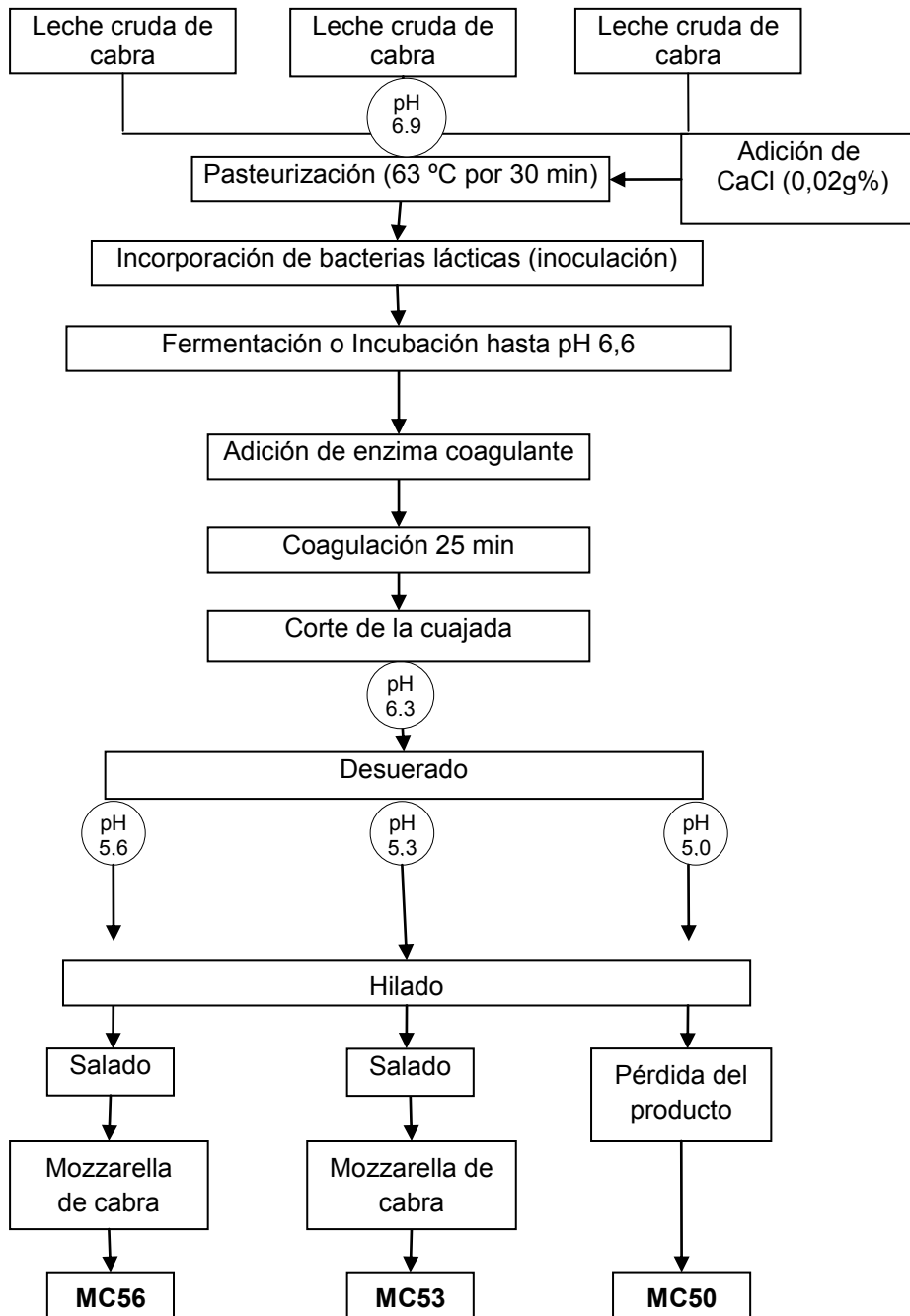


Figura 1: Proceso de elaboración de los quesos mozzarellas de cabra.

Paralelamente, durante la coagulación de la masa, se hicieron cada 15 minutos, determinaciones de pH con peachímetro digital Hanna, y textura con equipo QTS Texture Analyser (Brookfield), empleando el software Texture Pro v2.0. El Análisis de Perfil de Textura (TPA) se realizó en vasos de poliestireno cilíndricos de 2 cm de diámetro y 1 cm de altura, utilizando una media de carga de 5 g y registrando la deformación producida en el alimento. Las fotografías de la evolución de la textura en la cuajada fueron realizadas en escáner Hewlett Packard C3180.

Composición química de las muestras de quesos mozzarella

Luego de una maduración mínima de 24 horas (ANMAT, 2010), en los quesos mozzarellas obtenidos se realizaron los mismo análisis que a la leche (excepto Acidez Dornic), cambiando la forma de determinación de proteínas por el método macro-Kjeldahl (AOAC, 1996). Los rendimientos reales de los quesos se expresaron como kg de queso por 100 kg de leche de cabra utilizada [(L de leche utilizados/Kg de queso obtenidos) x 100].

Análisis estadístico

Los resultados se presentan como media ± desvío estándar de las mediciones replicadas. Para encontrar diferencias

significativas entre los análisis, las medias fueron analizadas mediante análisis unidireccional de la varianza (ANOVA) con un intervalo de confianza del 95% utilizando Microsoft de Excel StatPro™. Los datos del ANOVA con una $P < 0,05$ fue clasificado como estadísticamente significativa.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición química de las muestras de leche

Las diferencias encontradas en el contenido de proteínas y calcio podrían estar influenciadas principalmente por la raza y período de lactación (Chacón Villalobos, 2005; Quiles Sostillo y Hevia Méndez, 2001); el de grasa por la alimentación de los animales, la raza y el período de lactación (Oliszewski *et al.* 2002). De manera general las variaciones podrían deberse a diversos factores, entre ellos las características genéticas de la raza, el estado y momento de lactación en que se realice el ordeño, salud, estado fisiológico, y la alimentación del animal (Chacón Villalobos, 2005).

La composición química de las muestras de leche de cabra utilizadas en la elaboración de los quesos mozzarella se observa en la **Tabla 1**.

Elaboración de los quesos mozzarella

El tiempo de fermentación del starter para bajar el valor de pH de la materia prima a 6,6, fue de 30 minutos. La enzima quimosina coagula la leche y da como resultado una masa con apariencia de gel, superficie homogénea y brillante, adecuada para el posterior lirado, desuerado parcial y posterior descenso del valor de pH. Se alcanzó el pH de 5,6, 5,3 y 5,0 a 95, 105 y 120 minutos respectivamente.

Los resultados mostraron que a pH 5,6, para obtener una masa homogénea, hubo que aumentar el tiempo de hilado y utilizar una temperatura de 96 °C, lo que resultó en un producto de color amarillento, de aspecto seco y bajo rendimiento quesero; a pH 5,0 el hilado no ocurrió, posiblemente por una excesiva desmineralización de la masa, acompañada de la desnaturalización de las proteínas y a la proximidad a su punto isoeléctrico que la haría más inestable, motivo por el cual la cuajada se terminó diluyendo junto con el suero, siendo imposible obtener el queso; y a pH 5,3 se requirió menor tiempo de hilado y la temperatura en la cual era posible el amasado de la cuajada llegaba a los 60-65 °C, logrando obtener un producto de color blanco brillante, de pasta blanda, húmeda, y de mayor rendimiento quesero.

Tabla 1: Composición química de las muestras de leche de cabra utilizadas en la elaboración de los quesos mozzarella.

Ítem	Leche (MC56)	Leche (MC53)	Leche (MC50)
pH	6,81 ± 0,02	6,85 ± 0,03	6,84 ± 0,03
Acidez Titulable (°D)	11,03 ± 0,52	11,33 ± 0,46	10,93 ± 0,42
Humedad (%)	85,77 ± 0,29	85,43 ± 0,33	84,15 ± 1,10
Proteína (%)	4,80 ± 0,07 ^a	3,87 ± 0,09 ^b	4,70 ± 0,06 ^a
Grasas (%)	5,15 ± 0,05 ^c	5,96 ± 0,05 ^b	6,55 ± 0,05 ^a
Lactosa (%)	3,29 ± 0,34	3,76 ± 0,87	3,61 ± 0,54
Cenizas Totales (%)	0,99 ± 0,01	0,98 ± 0,01	0,99 ± 0,01
Calcio (%)	198,16 ± 6,32 ^a	126,45 ± 5,82 ^c	162,34 ± 5,76 ^b
Fósforo (%)	263,28 ± 0,76	185,43 ± 0,85	201,46 ± 0,43

^{a-c} Diferentes letras dentro de una misma fila, indican diferencias significativas ($P < 0,05$), para proteínas, grasas y calcio.

Composición química de las muestras de quesos mozzarella

El contenido de humedad de los quesos fueron significativamente diferentes ($P > 0,05$). MC56 fue clasificada como "queso de humedad media" o "pasta semidura" (contenido

de humedad entre 36,00 a 45,9 %) (ANMAT, 2010), no siendo apropiado para un queso mozzarella. Sin embargo, MC53 tuvo un contenido de humedad adecuado, clasificándose como "queso de alta humedad" o "pasta blanda" (contenido de humedad entre 46,00 a 54,9 %) (ANMAT, 2010).

Con respecto al contenido graso, ambos quesos presentaron diferencias significativas entre sí. MC56 fue clasificada como queso "semigraso" (entre 25,00 a 44,9 % de grasa en extracto seco), y MC53 como "graso" (entre 45,00 y 59,9 % de grasa en base seca) (ANMAT, 2010). Esto podría deberse a la mayor temperatura del agua (96 °C) utilizada para estirar la cuajada en la muestra MC56; que favorece la pérdida por el tamaño pequeño de los glóbulos de grasa de la materia prima empleada. El contenido de Ca fue más alto en la muestra MC53. El pH del suero promueve una serie de condiciones físico-químicas propicias para el flujo de la cuajada durante el estiramiento, entre ellas la solubilización de fosfato de calcio micelar, el aumento en la proporción de Ca soluble para-coloidal, y el aumento de la hidratación de la para-caseína, en el cual es posible el amasado y estirado de la masa (Yazici *et al.* 2010). En la muestra MC56, al haber mayor pérdida de humedad y mayor volumen de desuerado, también hay mayor pérdida de calcio soluble.

Factores como el pH del suero antes del hilado, la temperatura utilizada durante el amasado, como así también la pérdida de humedad y de calcio, determinaron las diferencias significativas

observadas en el rendimiento quesero, siendo mayor en la muestra MC53.

La composición química y rendimiento quesero de las muestras de queso mozzarella de cabra obtenidos a pH 5,6 (MC56) y 5,3 (MC53), se observan en la **Tabla 2**.

Tabla 2: Composición química y rendimiento quesero de las muestras de queso mozzarella de cabra obtenidos a pH 5,6 (MC56) y 5,3 (MC53).

Ítem	Queso (MC56)	Queso (MC53)
pH	5,70 ± 0,05	5,50 ± 0,09
Humedad (%)	41,46 ± 0,21 ^b	46,43 ± 0,37 ^a
Proteína (%)	53,87 ± 0,82 ^a	49,50 ± 0,55 ^a
Grasas (%)	40,57 ± 0,05 ^b	46,03 ± 0,28 ^a
Lactosa (%)	1,43 ± 0,05	0,78 ± 0,04
Cenizas Totales (%)	4,11 ± 0,05	3,67 ± 0,03
Calcio (%) 53,57	342,60 ± 8,36 ^b	1186,91 ± 1,07 ^a
Fósforo (%)	887,47 ± 0,63	895,96 ± 0,93
Rendimiento Quesero (%)	7,23 ^b	16,80 ^a

^{a-b} Diferentes letras dentro de una misma fila, indican diferencias significativas ($P < 0,05$), para proteínas, grasas y calcio.

Por otro lado, la evolución del pH del suero y del coágulo, a partir de la adición de la enzima a la leche de cabra (**Tabla 3**), muestra que durante toda la etapa de coagulación el pH del suero es inferior al del coágulo. A los 105 minutos, al introducir una pequeña porción de masa en agua caliente se observa que la misma está lista para el hilado, lo cual coincide con un pH de desuerado de 5,35.

Tabla 3: Evolución del pH durante la elaboración de la mozzarella de cabra

Tiempo (minutos)	pH suero	pH masa
15	6,42	6,90
30	6,33	6,80
45	6,27	6,60
60	6,12	6,30
75	5,90	6,00
90	5,60	5,80
105	5,35	5,50
120	5,00	5,50

La evolución de la textura muestra que los parámetros de dureza y cohesividad no varían mucho durante toda la etapa de coagulación (**Figura 2**). Sin embargo, la dureza presentó grandes

diferencias entre la cuajada y el queso obtenido por proceso de hilado.

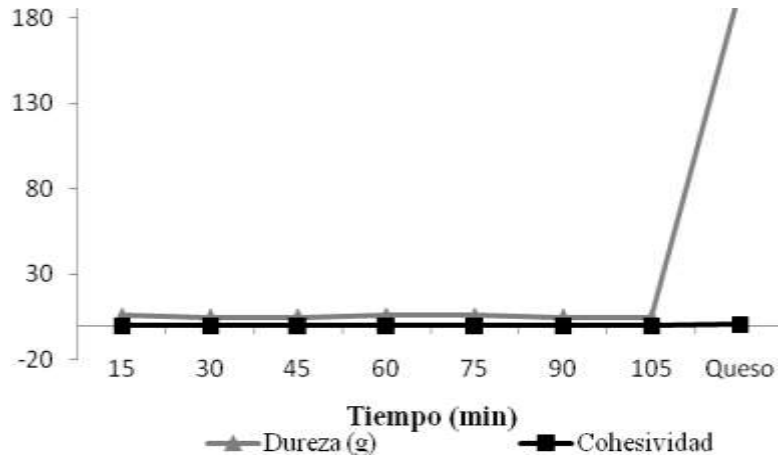


Figura 2: Cambios en los parámetros de Dureza y Cohesividad del coágulo durante la obtención de la mozzarella de cabra a pH 5,3.

Los cambios de textura durante la evolución de la coagulación (**Figura 3**) muestran que al principio se ve una masa con falta de estructura posiblemente debido a que 15 minutos no son suficiente tiempo para que la enzima ejerza su efecto coagulante, a los 90 minutos se observa como de a poco se van agregando

las micelas de caseína, a los 105 minutos el coágulo se ve más uniforme y continuo. Además, hubo una gran diferencia de textura entre la cuajada y el queso obtenido a partir de ella, donde claramente la mozzarella presentó una estructura fibrosa, resultado del hilado durante el procesamiento.

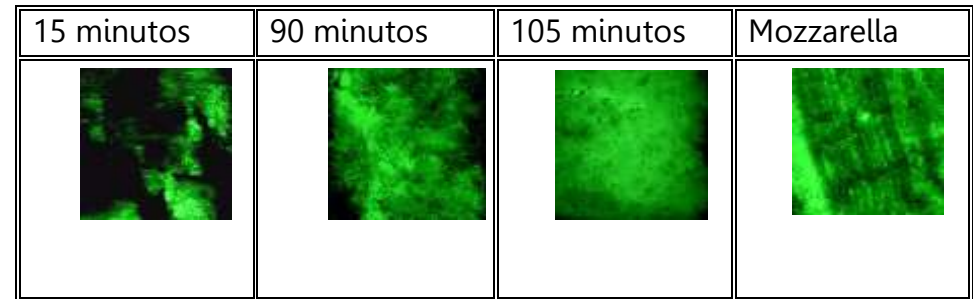


Figura 3: Fotografías (2 x 2 cm) de los cambios en la textura del coágulo en distintos tiempos y la mozzarella de cabra

CONCLUSIONES

El producto resultó en una pasta blanda color blanco brillante de aroma típico. El rendimiento quesero fue de 16,80 %. De acuerdo a C.A.A., el queso mozzarella se clasifica como un producto graso y de alta humedad o pasta blanda. Respecto a la textura, los resultados permiten observar la ordenación vertical de las fibras de caseína, que sirven como base para establecer una caracterización textural del producto final.

Se concluye que, la leche usada presenta adecuada aptitud al procesamiento característico de éste tipo de quesos, y que a pH de suero 5,3 la masa estaría lista para hilarse, por lo tanto sería el indicado para obtener un QMLC de adecuadas características químicas.

BIBLIOGRAFÍA

Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos, y Tecnología Médica (ANMAT). 2010. Secretaria de Políticas, Regulación y Relaciones Sanitarias. Ministerio de Salud. Poder Ejecutivo Nacional. Código Alimentario Argentino. Disponible en: <http://www.anmat.gov.ar/codigoa/caa1.htm> [Acceso 20 de noviembre de 2014]

Association of Official Agricultural Chemists. 1996. Official Methods of the A.O.A.C. Washington D.C.

Cachón Villalobos A. 2005. Aspectos Nutricionales de la Leche de Cabra (*Caprahircus*) y sus variaciones en el Proceso Agroindustrial. *Agronomía Mesoamericana*, 16:239-252.

Hansen C. 2010. Guía de aplicación de cultivos probióticos en productos lácteos. Disponible en: <http://www.chr-hansen.com> [Acceso 6 de junio de 2014].

Federal Register. 1982. Electronic code of federal regulations. Title 21: food and drugs. Part 184 e direct food substances affirmed as generally recognize as safe. Retrieved on 27.10.14. Last updated 01.04.96. Disponible en: www.ecfr.gov [Acceso 15 de julio de 2014].

Hussain I, Grandison AS., Bell AE. 2012. Effects of gelation temperature on Mozzarella-type curd made from buffalo and cows' milk. 1: Rheology and microstructure. *Food Chemistry*, 134:1500–1508.

Joshi NS, Muthukumarappan K, Dave RI. 2002. Role of soluble and colloidal calcium contents on functionality of salted and unsalted part skim Mozzarella cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*, 57:203–210.

Joshi NS, Muthukumarappan K, Dave RI. 2004. Effects of reduced calcium, test temperature and storage on stretchability of part skim Mozzarella cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*, 59:60–64.

Oliszewski R, Rabasa AE, Fernández J, Poli MA, Núñez de Kairúz MS. 2002. Composición química y rendimiento quesero de la leche de cabra Criolla Serrana del noroeste argentino. *Zootecnia Tropical*, 20(2): 31-35. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/cielo.php?script=sci_arttext&pid=S079872692002000200003&lng=es&nrm=iso [Acceso el 20 de abril de 2014].

Ong L, Soodam K, Kentish SE, Powell IB, Gras, SL. 2014. The addition of calcium chloride in combination with a lower draining pH to change the microstructure and improve fat retention in Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, In Press.

Paz NF, Gonçalves de Oliveira E, Nuñez de Kairuz MS, Ramón AN. 2014. Characterization of goat milk and potentially symbiotic non-fat yogurt. *Food Science and Technology*, 34 (3). In press.

Quiles Sotillo A, Hevia Méndez MA. 2001. Propiedades Físicas de la Leche de Cabra. *Ganadería*, 6:53-55 [En línea] Disponible en: http://www.mapa.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_Ganad/Ganad_2001_6_53_55.pdf [Acceso 14 de Febrero de 2014].

Sexto Foro Federal de la Industria. 2007. Cadena Caprina en la Región Noroeste. Jornada de Trabajo. 7 y 8 de junio de 2007. [En línea] Disponible en:

http://www.minagri.gob.ar/SAGPyA/ganaderia/caprinos/05informacion_caprina/_archivos/000001Comercialización/000010_Cadena%20caprina%20en%20la%20región%20noroeste.pdf [Acceso 1 de Febrero de 2014].

Villegas de Gante A. 1993. Los quesos mexicanos. Ed. CIESTAAM. México.

Yun JJ, Barbano DM, Kindstedt PS. 1993. Mozzarella cheese: Impact of milling pH on chemical composition and proteolysis. *Journal of Dairy Science*, 76:3629–3638.

Yazici F, Dervisoglu M, Akgun A, Aydemir O. 2010. Effect of whey pH at drainage on physicochemical, biochemical, microbiological, and sensory properties of Mozzarella cheese made from buffalo milk during refrigerated storage. *Journal of Dairy Science*, 93:5010–5019.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo realizado con fondos del Centro de Investigación de la Universidad Nacional del Salta, Proyecto N° 2071. Se agradece a la Lic. Patricia Giménez por el uso y manejo del equipo QTS Texture Analyser.

EMULSIONES SÍMIL MARGARINAS PREPARADAS CON DIFERENTES GRASAS: ESTUDIO DE SU MICROESTRUCTURA

Pérez M.P.^{1,2}, Wagner J.R.^{1,2}, Márquez A.L.^{1,2}

1: Laboratorio de Investigación en Funcionalidad y Tecnología de Alimentos (LIFTA), Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes, Argentina

2: CONICET

prz.mpaula@gmail.com

Resumen: El objetivo fue estudiar la microestructura de emulsiones agua en aceite, con diferentes grasas como fase continua. Se prepararon emulsiones variando distintos parámetros a partir de una emulsión base (EB): aceite vegetal interesterificado con bajo contenido de ácidos grasos trans, 1% de polirricinoleato de poliglicerol (PGPR) como emulsionante lipofílico, 20% de agua destilada y homogeneización a 24000 rpm. Como fase lipídica continua alternativa se utilizó grasa bovina, aceite de soja parcialmente hidrogenado y aceite de girasol; en este último caso se observó un mayor diámetro promedio de partícula (d_{43}). Se modificó también la concentración de PGPR y de fase acuosa dispersa, detectándose aumentos significativos de d_{43} con el menor contenido de emulsionante y la mayor cantidad de agua. Además, se cambió la fase acuosa dispersa por leche descremada reconstituida y soluciones de cloruro de calcio y caseinato de sodio, observándose la mayor diferencia con respecto a EB en el último caso. También se emplearon dos monoglicéridos como

emulsionantes alternativos, observándose mayores d_{43} que con PGPR. Por último, la disminución de la velocidad de homogeneización dio como resultado mayores valores de d_{43} , lo que resultó en un mayor contenido de grasa sólida en la emulsión.

Palabras clave: emulsiones w/o; grasas; microestructura; cristalización.

Abstract: The objective was to study the microstructure of water-in-oil emulsions with different fats as continuous lipid phase. Emulsions were prepared changing different parameters from a base emulsion (BE): low trans interesterified vegetable oil as lipid phase, 1% polyglycerol polyricinoleate (PGPR) as lipophilic emulsifier, 20% distilled water and homogenization at 24000 rpm. As alternative continuous lipid phase bovine fat, partially hydrogenated soybean oil and sunflower oil were used; in the latter case higher mean droplet diameter (d_{43}) was observed. PGPR and dispersed aqueous phase concentrations were also modified, detecting a significative increase of d_{43} with the lowest emulsifier content and the highest water quantity. Furthermore, the aqueous phase was changed by reconstituted skimmed milk and solutions of calcium chloride and sodium caseinate; the latter case showed the highest difference with respect to BE. Two monoglycerides were employed as alternative emulsifiers, observing higher d_{43} values in comparison to PGPR. Finally, higher d_{43} values were observed with decreasing speed of homogenization, resulting in emulsions with higher values of solid fat content.

Keywords: emulsions w/o; fats; microstructure; crystallization.

INTRODUCCIÓN

Una emulsión se compone de dos líquidos inmiscibles con uno de los líquidos disperso en el otro en forma de pequeñas gotas esféricas (McClements 1999). En particular, las emulsiones agua en aceite (w/o) son menos comunes que las aceite en agua (o/w) y pocos estudios han sido dedicados a las mismas. La manteca y la margarina son típicos ejemplos de este tipo de emulsiones. En trabajos anteriores realizados por nuestro grupo de trabajo, se ha estudiado la microestructura de las emulsiones w/o con diferentes ésteres de sorbitán (Spans) (Márquez *et al.* 2007) y polirricinoleato de poliglicerol (PGPR) (Márquez *et al.* 2010) como emulsionantes, observándose cambios con la variación de tipo y concentración de emulsionante y la composición de la fase acuosa dispersa. Otros autores analizaron la microestructura de este tipo de emulsiones empleando otros emulsionantes (Berg *et al.* 2004). Recientemente fueron realizados estudios microestructurales de emulsiones w/o preparadas con manteca de cacao y PGPR (di Bari *et al.* 2014).

Como regla general, los emulsionantes deben poseer mayor afinidad por la fase continua que por la fase dispersa. Por lo tanto, los emulsionantes utilizados para la formulación de emulsiones w/o deben tener un bajo balance hidrofílico-lipofílico; tal es el caso de los Spans, los monoglicéridos y el PGPR. En cuanto al PGPR, es un poderoso emulsionante que puede ser utilizado para la obtención de emulsiones w/o estables y con importante contenido de fase acuosa. Su efectiva propiedad emulsionante es atribuida a la alta afinidad con el agua de sus largas cadenas hidrofílicas de poliglicerol (Wilson *et*

al. 1998). En la industria de alimentos, el PGPR es utilizado junto con la lecitina para disminuir la viscosidad de coberturas de chocolate (Banford *et al.* 1970, Schantz y Rhom 2005). También suele ser empleado como emulsionante en productos con bajo o alto contenido de grasa, como la manteca, las margarinas y los aderezos de ensaladas (Wilson *et al.* 1998).

El objetivo de este trabajo fue estudiar la microestructura de emulsiones w/o con diferentes grasas como fase continua y analizar el efecto provocado por la variación de la fase lipídica, la cantidad y la composición de fase acuosa dispersa, el tipo y la concentración de emulsionante lipofílico y la velocidad de homogeneización.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Aceite vegetal interesterificado con bajo contenido de ácidos grasos (LT); grasa bovina blanqueada (GB); aceite de soja parcialmente hidrogenado (AS); aceite de girasol refinado (AG) (Molino Cañuelas SACIFIA; Cañuelas, Argentina); leche vacuna en polvo descremada (S.A. La Sibila; Rosario, Argentina); agua destilada; PGPR 90 (Grindsted-Danisco); cloruro de calcio (Anedra; San Fernando, Argentina) y caseinato de sodio (NaCN) (Sigma; Nueva Zelanda); monoglicéridos destilados de ácidos grasos vegetales y principalmente de ácido graso oleico (Palsgaard 0093 y 0291, respectivamente). Las grasas LT, GB y AS junto con el PGPR y los monoglicéridos fueron provistos por CALSA (Lanús, Argentina).

Preparación de las emulsiones

Se preparó una emulsión base (EB) con LT como fase lipídica continua conteniendo 1% de PGPR como emulsionante lipofílico, 20% de agua destilada como fase acuosa dispersa y homogeneización a 24000 rpm mediante un equipo tipo rotor-estator Utraturrax T-25 (IKA-Labortechnik; Staufen, Alemania) con un rotor S25-20NK-18G (IKA-Labortechnik; Staufen, Alemania) durante 2 min (vaso de 150 ml; peso de la muestra, 100 g). Se varió cada parámetro de la emulsión manteniendo el resto de los parámetros iguales a EB: fase lipídica continua (LT, GB, AS y AG); concentración de PGPR (0,5, 1,0, 2,0 y 4,0 %); cantidad de fase acuosa dispersa (10, 20, 30 y 40 %); velocidad de homogeneización (6000, 12000 y 24000 rpm); composición de fase acuosa dispersa (agua destilada, leche descremada reconstituida, solución de cloruro de calcio con 126 mg Ca²⁺/100g y solución de NaCN al 2,8% p/p); tipo de emulsionante lipofílico (PGPR y monoglicéridos 0093 y 0291). Las grasas fueron previamente fundidas y las homogeneizaciones se realizaron en caliente (temperaturas superiores a 75°C) con el fin de evitar la cristalización de la grasa durante el proceso.

Distribución de tamaño de partícula

Las distribuciones de tamaño de partícula de las emulsiones fueron obtenidas con un analizador de partículas (Malvern Mastersizer 2000E, Malvern Instruments Ltd.; Workcestershire, Reino Unido). Los diámetros de partícula promedio (d₄₃) fueron obtenidos a partir de las distribuciones de tamaño de partícula en volumen. Antes de las mediciones, las muestras fueron diluidas en aceite caliente (1:5; ~ 70 °C) inmediatamente después

de su preparación, y luego fueron diluidas nuevamente en aceite a temperatura ambiente (~ 21 °C) en el sistema de dispersión (Hydro 2000MU) a una velocidad de 2000 rpm.

Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Los termogramas de las emulsiones fueron obtenidos utilizando un equipo MDSC Q-200 (TA Instruments; New Castle, EE.UU.). Las emulsiones fueron previamente almacenadas a 7 °C durante 1 día. Las muestras, en cápsulas de aluminio herméticamente selladas, fueron enfriadas hasta 1°C a 10°C/min (con una isoterma a esa temperatura durante 10 min) y calentadas hasta 70°C a 5°C/min.

El contenido de grasa sólida (CGS) de las diferentes grasas y emulsiones fue calculado mediante el método de DSC corregido, desarrollado en un trabajo previo, el cual consiste en la conversión de unidades de energía en unidades de masa mediante el uso de una correlación lineal entre la entalpía de fusión y el punto de fusión de diferentes triglicéridos (Márquez *et al.* 2013). En el caso de las emulsiones, dado que fueron enfriadas sólo hasta 1°C para evitar la congelación de la fase acuosa, no pudo obtenerse el termograma completo para analizar la cristalización de la fase grasa. Por lo tanto, el método para calcular el CGS fue adaptado mediante el uso de la siguiente ecuación:

$$CGS = \frac{\int_{T_f}^{T_i} m dT}{M} \times 10 \quad (1)$$

donde m es la masa fundida en función de la temperatura (T), T_f es la temperatura final de fusión y M es la masa total de muestra pesada en la cápsula.

Análisis estadístico

El análisis estadístico fue realizado por análisis de varianza y la prueba de mínima diferencia significativa ($P < 0,05$) utilizando el programa estadístico Statgraphics Plus 5.1. Para el análisis estadístico de los datos de d_{43} , los valores fueron previamente transformados a su logaritmo decimal.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de la fase lipídica continua

En la **Figura 1** se muestran las distribuciones de tamaño de partícula, expresadas en volumen, de emulsiones w/o con diferentes variaciones aplicadas a EB. En particular, en la **Figura 1A** se observa el efecto de la variación de la fase lipídica, para lo cual se utilizaron diversas grasas (LT, GB y AS) y un aceite (AG). Todas estas emulsiones presentaron distribuciones trimodales con poblaciones cuyas modas aproximadas fueron de 0,3, 2 y 10 μm . En todos estos casos la población mayoritaria correspondió a 0,3 μm , sin observarse variaciones importantes en el volumen porcentual de gotas de dicha población. Algunas diferencias fueron detectadas en las otras dos poblaciones. La emulsión preparada con AS presentó una población de mayor volumen de gotas con diámetro de 2 μm que en los demás casos, mientras que el sistema con AG mostró un mayor volumen de gotas de 10 μm . Estas diferencias podrían deberse a una diferente afinidad

de cada grasa con el emulsionante PGPR, debido a la distinta composición de ácidos grasos que se manifiesta en diferentes CGS (**Figura 2**). Además, la emulsión preparada con AG presentó un mayor valor de d_{43} que los demás sistemas (**Figura 3A**), indicando que una mayor cantidad de ácidos grasos insaturados daría como resultado emulsiones w/o con mayor tamaño de gotas de agua.

Efecto de la concentración de emulsionante lipofílico

La variación de concentración de PGPR (0,5, 1, 2 y 4%) produjo algunos cambios en la distribuciones de tamaño de partícula de los sistemas, fundamentalmente en las poblaciones de mayor tamaño de partícula (**Figura 1B**). A medida que aumenta la concentración de emulsionante, la distribución tiende a cambiar de trimodal a bimodal. Un comportamiento similar fue observado en un trabajo previo de emulsiones w/o preparadas con PGPR y aceite de girasol, donde el aumento de concentración de emulsionante tendió a unificar las poblaciones (Marquéz *et al.* 2010). Este resultado podría explicarse por el hecho de que una mayor cantidad del emulsionante permite generar más área interfacial, formándose menos cantidad de gotas de mayor tamaño. Por su parte, la emuls on con 0,5% de PGPR mostró un mayor valor de d_{43} que en los demás casos, evidenciando la formación de menos área interfacial (**Figura 3B**).

Efecto de la cantidad de fase acuosa dispersa

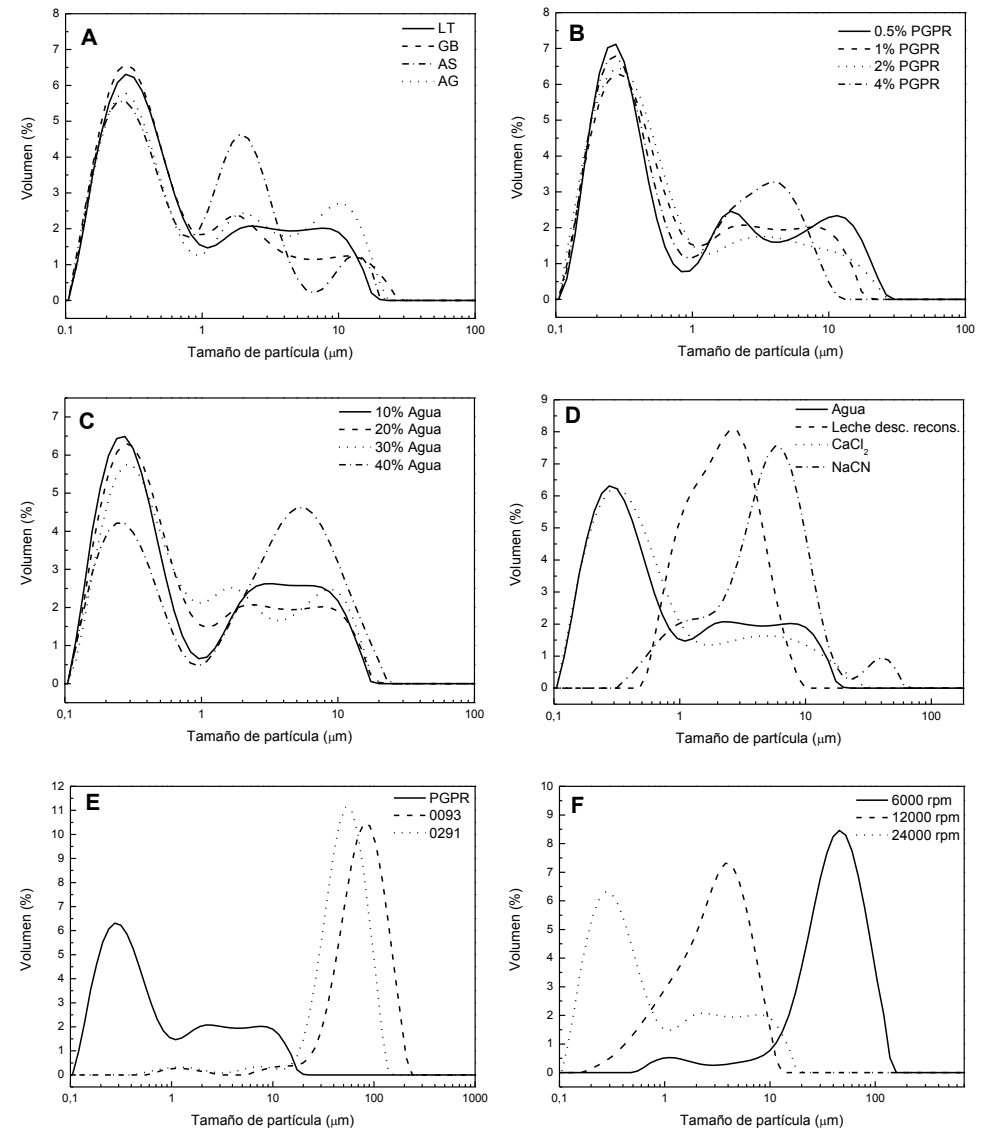
El aumento de la cantidad de fase acuosa dispersa produjo un efecto similar al de la disminución de la concentración de emulsionante lipofílico, debido a la disminución de la relación

PGPR/agua. Cuando se aumentó el contenido de agua de 10 a 30%, la distribución de tamaño de partícula adoptó una característica trimodal más marcada (**Figura 1C**). Con 40% de agua se observó un cambio más abrupto, dado que hubo un aumento en el volumen de gotas de mayor tamaño a expensas de la población de menor tamaño de gotas, lo cual se manifiesta en un mayor valor de d_{43} (**Figura 3C**). Este último señalaría la existencia de un límite para la relación agua/PGPR empleada.

Efecto de la composición de la fase acuosa dispersa

La composición de la fase acuosa dispersa fue variada utilizando agua destilada, leche descremada reconstituida, solución de CaCl_2 en igual concentración que en la leche (126 mg/100g) y dispersión de NaCN en concentración aproximada a la de la leche (2,8%). Las emulsiones con agua destilada y CaCl_2 presentaron distribuciones de tamaño de partícula similares, mostrando una población mayoritaria con moda de 0,3 μm (**Figura 1D**).

Figura 1: Distribución de tamaño de partícula de emulsiones agua en aceite (w/o) con variaciones a partir de una emulsión base: grasa LT con 1% de polirricinoleato de poliglicerol (PGPR); 20% de agua destilada; homogeneización a 24000 rpm. **A)** Variación de fase lipídica continua. **B)** Variación de concentración de PGPR. **C)** Variación de la cantidad de fase acuosa. **D)** Variación de la composición de la fase acuosa dispersa. **E)** Variación del tipo de emulsionante lipofílico. **F)** Variación de la velocidad de homogeneización.



El empleo de NaCN afectó en mayor medida al tamaño de partícula de la emulsión que la leche, con valores de moda principal de 6 μm y 3 μm , respectivamente. Estos cambios pueden deberse a la adsorción competitiva de las proteínas con el PGPR (McClements 1999), observándose un efecto antagónico por parte del NaCN. Además, sólo con NaCN se detectó un aumento significativo en el valor de d_{43} con respecto a EB (**Figura 3D**). Posiblemente el menor valor de d_{43} en la emulsión preparada con leche en comparación con NaCN se deba a la presencia de otros componentes disueltos que favorecen la formación de emulsiones con menores tamaños de partícula.

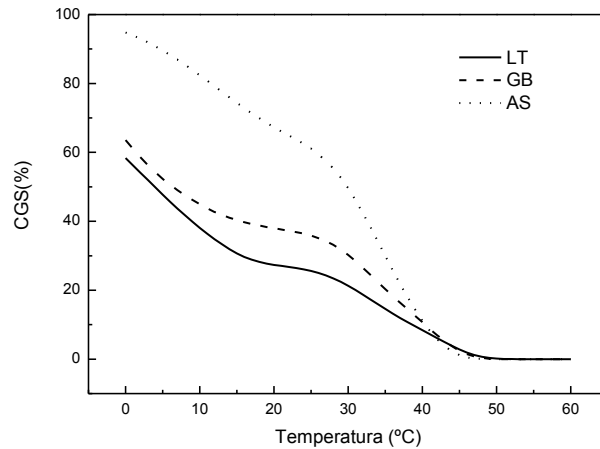


Figura 2: Contenido de grasa sólida (CGS) de diferentes grasas: aceite vegetal interesterificado con bajo contenido de ácidos grasos trans (LT); grasa bovina blanqueada (GB); aceite de soja parcialmente hidrogenado (AS).

Efecto del tipo de emulsionante lipofílico

Se varió la clase de emulsionante lipofílico, comparando PGPR con dos tipos de monoglicéridos (Palsgaard 0093 y 0291) a la misma concentración. En la **Figura 1E** se puede observar que las emulsiones preparadas con monoglicéridos tuvieron poblaciones principales con modas mayores a los 30 μm , superando los diámetros de cualquier población en la emulsión con PGPR. Esto se vio reflejado en mayores valores de d_{43} en los sistemas con monoglicéridos en comparación con PGPR (**Figura 3E**). Este resultado evidencia que el PGPR es un emulsionante mucho más efectivo que los monoglicéridos para obtener emulsiones w/o.

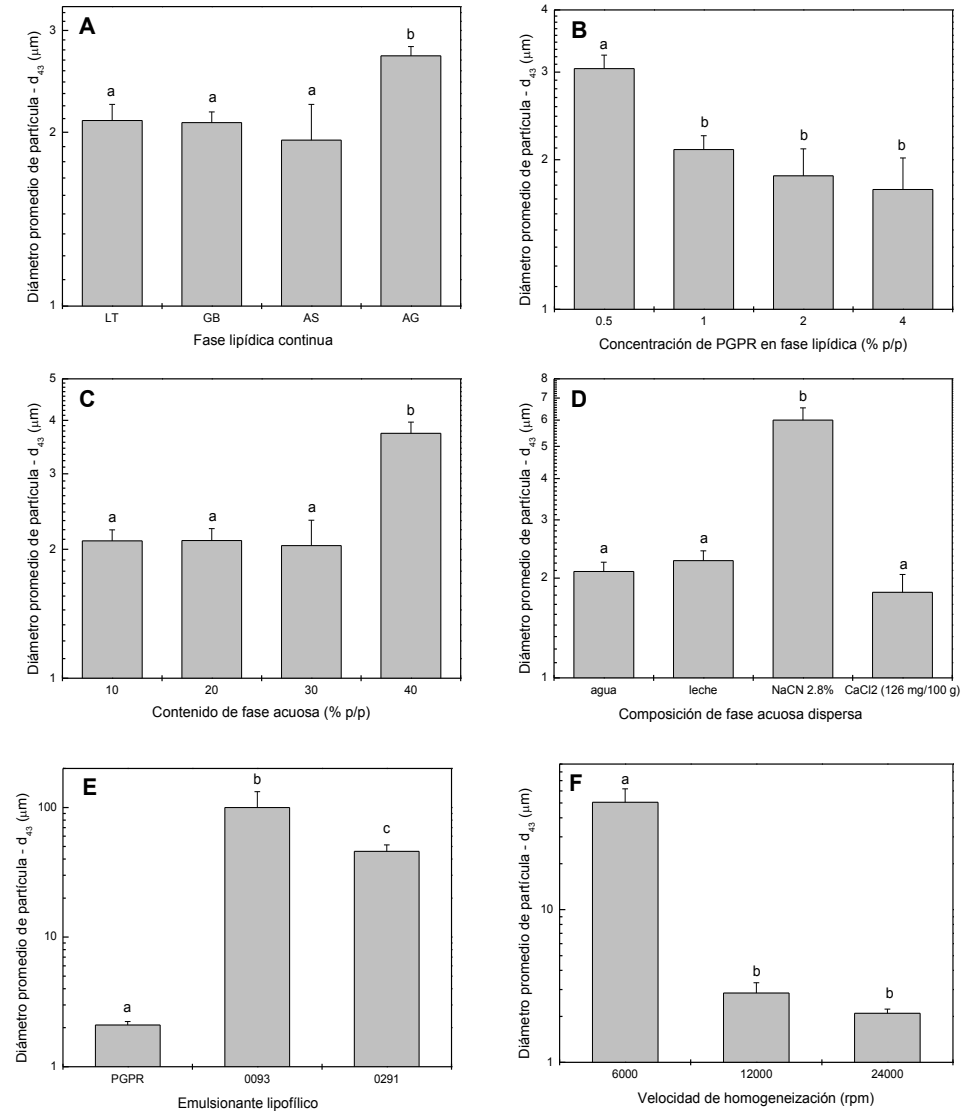
Efecto de la velocidad de homogeneización

Se estudió el efecto de la energía de homogeneización empleando tres velocidades diferentes: 6000, 12000 y 24000 rpm. Al disminuir la energía de homogeneización, la distribución de tamaño de partícula presentó un aumento en la moda de la población principal, siendo 0,3 μm para la velocidad más alta, 4 μm para la velocidad intermedia y 60 μm para la velocidad más baja (**Figura 1F**). En cuanto a los valores de d_{43} , no se observaron diferencias significativas entre 12000 y 24000 rpm, pero sí se detectó un aumento en el valor de d_{43} a 6000 rpm (**Figura 3F**).

Se analizó el efecto de la velocidad de homogeneización sobre la cristalización de la fase grasa. Los perfiles de DSC muestran que la cristalización de la fase grasa en la emulsión homogeneizada a 6000 rpm tuvo diferencias notables con respecto a los sistemas preparados a 12000 y 24000 rpm (**Figura 4A**). Particularmente, en la emulsión obtenida a 6000 rpm se vio favorecida la formación de cristales de mayor punto de fusión.

Además, el sistema homogeneizado a 6000 rpm presentó mayores valores de CGS que las otras dos emulsiones entre 20 y 40°C (**Figura 4B**). Este resultado estaría vinculado al mayor tamaño de gotas de la emulsión homogeneizada a menor velocidad. Cuando las gotas son de mayor tamaño, la cantidad de partículas es menor, por lo cual la cristalización se encontraría menos restringida. Debe notarse que el CGS de la grasa LT en ausencia de gotas de agua fue considerablemente mayor que en las emulsiones preparadas con la misma grasa, lo cual evidencia que la fase acuosa dispersa tiene un efecto antagónico sobre la cristalización de la fase lipídica continua.

Figura 3. Valores de tamaño de partícula promedio (d_{43}) de emulsiones agua en aceite (w/o) con variaciones a partir de una emulsión base: grasa LT con 1% de polirricinoleato de poliglicerol (PGPR); 20% de agua destilada; homogeneización a 24000 rpm. **A)** Variación de fase lipídica continua. **B)** Variación de concentración de PGPR. **C)** Variación de la cantidad de fase acuosa. **D)** Variación de la composición de la fase acuosa dispersa. **E)** Variación del tipo de emulsionante lipofílico. **F)** Variación de la velocidad de homogeneización. Los valores son medias de dos replicados y las barras de error corresponden al desvío estándar. Medias con letras diferentes indican que hay diferencias significativas entre muestras ($p < 0,05$).



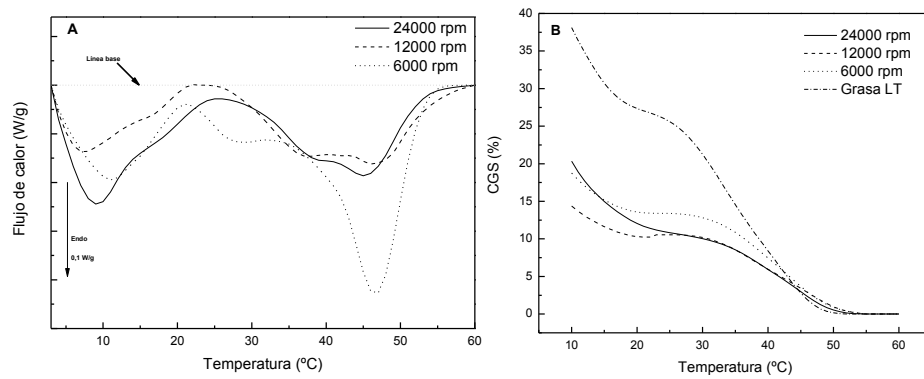


Figura 4. A) Termograma obtenido por calorimetría diferencial de barrido (DSC) para las emulsiones agua en aceite (w/o) con variación de velocidad de homogeneización de emulsión de grasa LT con 1% de polirricinoleato de poliglicerol (PGPR) y 20% de agua destilada. **B)** Contenido de grasa sólida (CGS) de grasa LT y emulsiones agua en aceite (w/o) en fase lipídica con variación de velocidad de homogeneización de emulsión de grasa LT con 1% de polirricinoleato de poliglicerol (PGPR) y 20% de agua destilada.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos mostraron los efectos de la variación de diferentes parámetros sobre la microestructura de las emulsiones w/o. Se observó que la variación de la fase lipídica continua produjo leves cambios en la distribución de tamaño de partícula; el mayor valor de diámetro promedio fue observado cuando se empleó aceite en lugar de grasa. Por su parte, el aumento de la concentración de PGPR o la disminución de la cantidad de fase acuosa dispersa tuvieron un efecto similar, tendiendo a unificar las dos poblaciones de mayor tamaño de partícula. La adición de NaCN en la fase acuosa produjo un sistema con mayor tamaño de gota, probablemente por un efecto de adsorción competitiva entre la proteína y el PGPR. Además, el PGPR mostró ser un emulsionante mucho más efectivo que los monoglicéridos, dado que estos últimos dieron tamaños de gota considerablemente mayores. Finalmente, la variación de la velocidad de homogeneización permitió obtener emulsiones con diferentes tamaños de gota, observándose que la cristalización de la fase grasa se vio más restringida cuando el diámetro de las partículas fue menor. El estudio realizado puede aplicarse al ajuste de diferentes parámetros en la producción de margarinas con el fin de mejorar la calidad del producto.

BIBLIOGRAFÍA

- Banford HF, Gardiner KJ, Howat GR, Thomson AF. 1970. The use of polyglycerol polyricinoleate in chocolate. *Confectionery Production*, 36: 359-365.
- Berg T, Arlt P, Brummer R, Emeis D, Kulicke WM, Wiesner S, Wittern KP. 2004. Insights into the structure and dynamics of complex W/O-emulsions by combining NMR, rheology and electron microscopy. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 238: 59-69.
- di Bari V, Norton JE, Norton IT. 2014. Effect of processing on the microstructural properties of water-in-cocoa butter emulsions. *Journal of Food Engineering*, 122: 8-14.
- Márquez AL, Pérez M.P, Wagner JR. 2013. Solid fat content estimation by differential scanning calorimetry: Prior treatment and proposed correction. *Journal of American Oil Chemistry Society*, 90: 467-473.
- Márquez AL, Medrano A, Panizzolo LA, Wagner JR. 2010. Effect of calcium salts and surfactant concentration on the stability of water-in-oil (w/o) emulsions prepared with polyglycerol polyricinoleate. *Journal of Colloid and Interface Science*, 341: 101-108.
- Márquez AL, Palazolo GG, Wagner JR. 2007. Water in oil (w/o) and double (w/o/w) emulsions prepared with spans: microstructure, stability, and rheology. *Colloid and Polymer Science*, 285: 1119-1128.
- McClements DJ. 1999. *Food Emulsions: Principles, Practice and Technique*. New York: CRC Press.

Schantz B, Rohm H. 2005. Influence of lecithin-PGPR blends on the Rheological Properties of Chocolate. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, 38: 41-45.

Wilson R, van Schie BJ, Howes D. 1998. Overview of the preparation, use and biological studies on polyglycerol polyricinoleate (PGPR). *Food and Chemical Toxicology*, 36: 711-718.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el aporte financiero de la Universidad Nacional de Quilmes (Programa I+D PUNQ 53/1007). M. P. Pérez es becaria interna doctoral del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y J. R. Wagner y A. L. Márquez son investigadores de dicho Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES ENCAPSULANTES DEL MUCÍLAGO DE TUNA (*OPUNTIA FICUS INDICA* L.MILL)

Quinzio C.M.^{1,2}, Mishima A. B.¹, Iturriaga L.B.^{1,2}

1: Centro de Investigaciones y Transferencia Santiago del Estero (CITSE). Villa el Zanjón. Ruta Nacional N 9. Km 1125. Santiago del Estero. Argentina.

2: Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. (ICyTA). Avda. Gral. Savio y La Forja 4300. Parque Industrial. La Banda. Santiago del Estero. Argentina.
cmquinzio@hotmail.com

Resumen: En este trabajo se estudió las propiedades encapsulantes del mucílago de tuna y se la comparó con la de hidrocoloides comerciales. Para la obtención de las cápsulas se utilizó como material de pared mucílago e hidrocoloides comerciales, goma guar (GG) y goma xántica (GX) de grado alimentario y como relleno aceite comercial NATURA®. Se empleó como método de encapsulación la liofilización. La caracterización de las cápsulas se realizó determinando el contenido de humedad, la eficiencia de encapsulación (EE) y la estabilidad oxidativa. Las cápsulas presentaron porcentajes de humedad que variaron entre 3 y 6%. Las EE de las cápsulas obtenidas utilizando como material de pared mucílago fueron menores, pero del mismo orden de magnitud que las obtenidas con GG y GX. La estabilidad oxidativa de las cápsulas obtenidas con mucílago fue similar a las formuladas con GG y GX durante las dos primera semanas del ensayo. El efecto protector de la

cápsula de mucílago decrece a partir de la tercera semana de almacenamiento. Teniendo en cuenta la eficiencia de la encapsulación y las propiedades protectoras frente a la oxidación, se desprende que es factible el uso del mucílago ya que el resultado fue comparable al de los otros polisacáridos estudiados.

Palabras Claves: Mucílago, propiedad encapsulante.

Abstract: In this article the encapsulating properties of tuna mucilage were studied and compared with that of commercial hydrocolloids. To produce the capsules a wall mucilage material and commercial hydrocolloids, guar gum (GG) and xanthan gum (GX) and commercial oil NATURA® like core were used. The capsules were obtained applying freeze-drying method. The capsules characterization was performed determining the moisture content, the encapsulation efficiency (EE) and the oxidative stability. The capsules had moisture contents ranging from 3% to 6%. The EE of capsules obtained using mucilage wall material were lower, but the same order of magnitude as those obtained with GG and GX. The oxidative stability of mucilage capsules obtained were similar to those made with GG and GX during the first two weeks of the trial. The protective effect of the mucilage capsule decreases from the third week of storage. Considering the efficiency of encapsulation and protective against oxidation properties, it appears that it is feasible the use of the mucilage and the result was comparable to that of other polysaccharides studied.

Keywords: Mucilage, encapsulating property.

INTRODUCCIÓN

Los hidrocoloides o gomas tienen un amplio campo de aplicación en la industria alimentaria, son principalmente utilizados para modificar las propiedades reológicas (flujo, deformación, textura y firmeza) tanto de alimentos líquidos como sólidos. También son ampliamente usados como agentes estabilizantes y emulsionantes.

Ciertas gomas extraídas de semillas de leguminosas, como la goma guar (*Cyamopsis tetragonoloba*) y la goma de garrofín (*Ceratonia siligua*) han sido utilizadas desde tiempos remotos y todavía hoy son importantes debido a sus propiedades viscosas en los sistemas que las contienen. Otros hidrocoloides ampliamente utilizados son la goma xántica, los almidones modificados y la celulosa modificada (carboximetilcelulosa) (Garti y Reichman 1993, Dickinson 2003).

En las últimas décadas, el uso de polisacáridos en alimentos se ha incrementado significativamente. Esto ha estimulado la búsqueda de nuevos hidrocoloides con propiedades funcionales novedosas como por ejemplo la de agente encapsulante o con ventajas económicas sobre los ya existentes.

Particularmente el desarrollo de encapsulados de principios activos para mejorar la calidad y/o aumentar la vida útil de los diferentes tipos de alimentos no ha perdido interés con el tiempo. En la actualidad constituye un reto la búsqueda de nuevas fuentes de materiales biológicos y biodegradables que ayuden a cubrir las necesidades actuales en este ámbito.

En nuestro país la mayor parte de las gomas utilizadas son importadas, a pesar de existir materias primas nacionales que

podrían ser utilizadas para su elaboración. Es por ello que resulta interesante la búsqueda de hidrocoloides que puedan ser una solución alternativa. Una fuente regional es un mucopolisacárido llamado mucílago, presente en los cladodios de la planta de tuna (*Opuntia ficus indica* L. Mill). Este hidrocoloide ha sido poco estudiado y prácticamente no hay información sobre sus propiedades funcionales. Ha sido caracterizado como una sustancia polimérica compleja compuesta por hidratos de carbono (McGarvie y Parolis 1981, Medina-Torres et al. 2000, 2003, Goycoolea y Cárdenas 2004, Matsuhira et al. 2006). En general contiene proporciones variables de L-arabinosa, D-galactosa, L-ramnosa y D-xilosa como las principales unidades de azúcares neutros, así como ácido galacturónico.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar las propiedades encapsulantes del mucílago de tuna y compararlo con las de hidrocoloides comerciales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Se utilizó como material de pared mucílago de tuna e hidrocoloides comerciales goma guar (GG) y goma xántica (GX) de grado alimentario. Como material de relleno se empleó aceite comercial NATURA®.

El mucílago fue obtenido mediante precipitación con alcohol etílico (MP) del exudado natural del tejido parenquimático del cladodio de la tuna.

Preparación de las emulsiones

Las emulsiones se prepararon dispersando el material de relleno, aceite comercial NATURA®, en las soluciones del material de pared (MP, GG, GX). La homogeneización se llevó a cabo a alta revoluciones (25.000 rpm) con homogeneizador Omni International Tissue Master 125 y a baja revoluciones (3000 rpm) con homogeneizador Philips HR 1350/06 durante 4 minutos. Las emulsiones fueron formuladas para tener una relación de material de pared a material de relleno de 4:1, 8:1, 20:1 (p/p).

Proceso de encapsulación por liofilización

El proceso constó de tres pasos principales: congelación, secado primario (sublimación), y secado secundario (desorción) (Barbosa-Cánovas y Vega-Mercado 1996, Ratti 2008, Tang y Pikal 2004).

El proceso se inició con la congelación de las emulsiones por un período de tiempo de 24 h. Para el secado primario y secundario de las emulsiones se utilizó un liofilizador Labconco, el proceso se llevó a cabo hasta sublimación completa del solvente. Las condiciones de liofilización fueron -50 ± 1 °C y 190×10^{-3} mmHg. La muestra seca se recogió y se molió hasta obtener un polvo fino.

Caracterización de las capsulas Determinación de humedad

El contenido de humedad de las cápsulas fue determinado de acuerdo al método 44-15 A (AACC 1983).

Eficiencia de encapsulación (EE)

La eficiencia de encapsulación fue determinada por la fracción de aceite encapsulado sobre la cantidad total de aceite.

$$EE = \frac{(AT-AS)}{AT} \times 100 \quad (1)$$

Donde:

AT es la cantidad total de aceite

AS es la cantidad de aceite no encapsulado, presente en la superficie de las cápsulas.

Determinación del contenido total de aceite (AT):

Una cantidad conocida de muestra se sometió a un proceso de extracción mediante una unidad Soxhlet con éter de petróleo (60-80°C), durante 4 horas. El peso del aceite recolectado después de la extracción se tomó como contenido total de aceite de las cápsulas.

$$AT = \left(\frac{AT \text{ obtenido}}{\text{grs de muestra}} \times 100 \right) \quad (2)$$

Determinación del aceite superficial (AS):

El aceite no encapsulado se determinó de acuerdo al método de Sankarikutty *et al.* (1988). Se añadió 100 ml de éter de petróleo (60-80°C) a 2 g de polvo en un matraz de 250 ml y se agitó

durante 10 min en un agitador orbital sin destrucción de las cápsulas. El solvente fue filtrado (Whatman 41) y evaporado mediante equipo Soxhlet. Para completar la evaporación del disolvente, el matraz se secó en estufa a 90 ° C durante 30 min. El contenido de aceite superficial fue determinado gravimétricamente luego de la evaporación del solvente.

$$AS = \left(\frac{AS \text{ obtenido}}{grs \text{ de muestra}} \times 100 \right) (3)$$

Estabilidad oxidativa

Para el estudio de la estabilidad a la oxidación, las cápsulas fueron almacenadas en recipientes abiertos a 25 y 60°C. Las cápsulas utilizadas en el estudio fueron previamente lavadas con hexano para eliminar el aceite superficial que influiría en el resultado del estudio. Las muestras se analizaron cada 7 días, durante 30 días, y se determinó la formación de malonaldehído (producto secundario de la oxidación de lípidos) mediante el índice del ácido tiobarbitúrico (TBA).

El valor de TBA se determinó como se indica en el método oficial AOCS Cd 19-90 (1998), y se expresó en µg de malonaldehído / g de muestra (Girgis 1999). Esta prueba es la más utilizada para la evaluación de la oxidación lipídica en tejidos biológicos. El método se basa en la reacción del malonaldehído (MDA) con dos moléculas de ácido tiobarbitúrico en medio ácido, para dar un derivado que presenta coloración rosada (máximo de absorción entre 530-535 nm).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de las cápsulas Determinación de humedad

El contenido de humedad de las microcápsulas varió entre 3 y 6% como se observa en las **Tablas 1** y **2**. En las mismas se muestran los porcentajes de humedad de las cápsulas obtenidas con los distintos hidrocoloideos y a las distintas relaciones de material de pared/ relleno. La **Tabla 1** corresponde a las cápsulas obtenidas a partir de emulsiones homogeneizadas a alta revolución y la **Tabla 2** a las homogeneizadas a bajas revoluciones.

Tabla 1: Porcentaje de humedad de las cápsulas en función de la relación de material de pared / relleno y del hidrocoloide utilizado.

Omni Internacional	%Humedad ⁿ		
	Pared / relleno		
Hidrocoloide	4:1	8:1	20:1
MP	3,68 ± 0,56 ^{a1}	3,94 ± 0,17 ^{b1}	3,29 ± 0,05 ^{c1}
GG	5,79 ± 0,03 ^{a2}	5,48 ± 0,21 ^{b2}	3,95 ± 0,96 ^{c2}
GX	4,51 ± 0,71 ^{a3}	4,67 ± 0,11 ^{b3}	4,48 ± 0,11 ^{c3}

ⁿ Valor medio de tres réplicas. Valores con igual letra en una misma columna no presentan diferencias significativas (p < 0, 05). La prueba de diferencias de medias para un nivel de significancia α = 0,05, mediante el test de Tukey se realizó comparando las muestras a igual relación de pared/relleno. Valores con igual número en una misma fila no presentan diferencias significativas (p < 0, 05). La prueba de diferencias de medias para un nivel de significancia α = 0,05, mediante el test de Tukey se realizó comparando las distintas relación de material de pared/relleno.

Tabla 2: Porcentaje de humedad de las cápsulas en función de la relación de material de pared / relleno y del hidrocoloide utilizado.

Philips HR 1350/06.	%Humedad ⁿ		
	Pared / relleno		
Hidrocoloide	4:1	8:1	20:1
MP	4,26 ± 0,87 ^{a1}	3,35 ± 0,36 ^{b1}	3,31 ± 0,05 ^{c1}
GG	4,36 ± 0,38 ^{a2}	4,12 ± 0,13 ^{b2}	3,34 ± 0,07 ^{c2}
GX	4,68 ± 0,20 ^{a3}	3,9 ± 0,36 ^{b3}	3,78 ± 0,55 ^{c3}

ⁿ Valor medio de tres réplicas. Valores con igual letra en una misma columna no presentan diferencias significativas ($p < 0,05$). La prueba de diferencias de medias para un nivel de significancia $\alpha = 0,05$, mediante el test de Tukey se realizó comparando las muestras a igual relación de pared/relleno. Valores con igual número en una misma fila no presentan diferencias significativas ($p < 0,05$). La prueba de diferencias de medias para un nivel de significancia $\alpha = 0,05$, mediante el test de Tukey se realizó comparando las distintas relación de material de pared/relleno.

Los porcentajes de humedad de las cápsulas obtenidas en este estudio estuvieron dentro del rango de los valores especificados (3 y 4%) para la mayoría de los polvos secos utilizados en la industria de la alimentación (Masters 1991). Es importante controlar este parámetro ya que valores altos del mismo facilitan los procesos de oxidación de lípidos encapsulados. Un elevado contenido de humedad también afecta la capacidad de flujo de los polvos (Sims 1989).

En las **Tablas 1 y 2** también se observa que, por lo general el contenido de sólidos totales afectó el contenido de humedad,

este decreció aunque no significativamente cuando se incrementó el contenido de los mismos.

En cuanto a la variación en el porcentaje de humedad de las cápsulas cuando se utilizó los diferentes homogeneizadores para obtener las emulsiones, las capsulas preparadas a partir de mucílago precipitado, goma guar y goma xántica no presentaron diferencias significativas respecto del porcentaje de humedad. Por lo tanto el proceso de secado por liofilización presentó la misma efectividad para todos los sistemas.

Eficiencia de encapsulación (EE)

La eficiencia de encapsulación refleja la presencia de aceite libre en la superficie de las cápsulas y el grado en que la matriz protege o puede prevenir la extracción de aceite interno a través de un proceso de lixiviación (Hogan *et al.* 2001.a). Es importante que tanto el contenido en material activo como la eficiencia de encapsulación sean lo más elevados posibles.

En la **Figura 1 (A y B)** se presentan los valores de eficiencia para las cápsulas obtenidas con los diferentes hidrocoloides y a distintas relaciones de material de pared/relleno. Se observa que la eficiencia de encapsulación fue significativamente dependiente de la cantidad de sólidos totales y de la proporción de aceite a encapsular. Los resultados muestran que la retención de material de núcleo en las microcápsulas fue mayor para una relación 20:1. En estas condiciones se encontró menos aceite en la superficie de la cápsula y más aceite dentro de la misma.

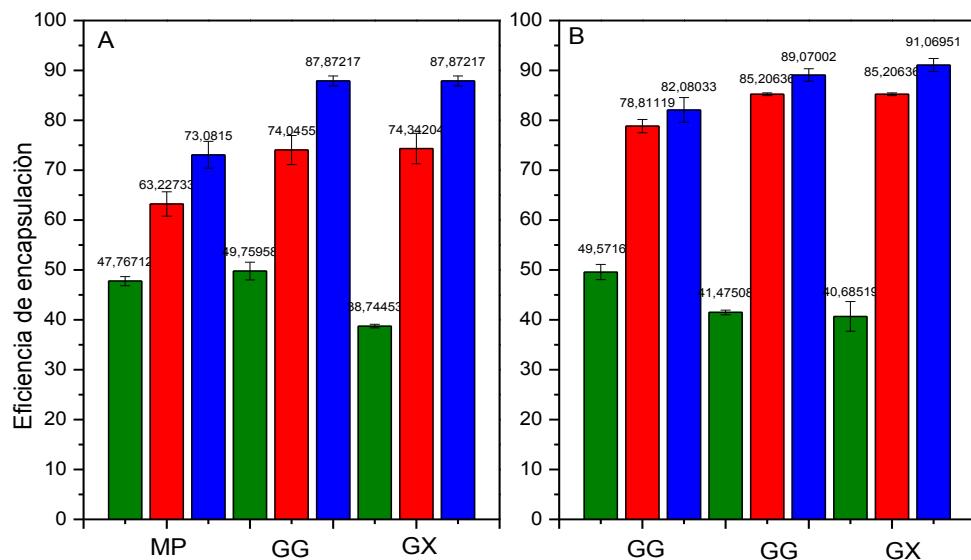


Figura 1: Eficiencia de encapsulación de las microcápsulas obtenidas con: (A) Homogeneizador Omni internacional, (B) homogeneizador Philips HR1350/06; para relación de pared /relleno: ■ 4:1, ■ 8:1, ■ 20:1.

En este sentido, estos resultados pueden explicarse teniendo en cuenta que cuanto mayor es el contenido de sólidos, mayor es la viscosidad de la fase continua que evita la agregación y la pérdida de gotas de aceite durante el proceso de liofilización. Además un mayor contenido de sólidos promueve un secado más rápido. Estos dos factores propician una eficiencia de encapsulación mayor.

En la Figura 1.B también se muestra que para una relación de material de pared/relleno 4:1 las cápsulas obtenidas con mucílago precipitado y homogeneizador Philips HR 1350/06 presentaron una eficiencia de encapsulación significativamente mayor que las cápsulas obtenidas con goma guar y goma xántica. Sin embargo, cuando se incrementa la relación de material de pared/relleno la eficiencia de las cápsulas de MP fueron significativamente menores que las obtenidas con los otros hidrocoloides. La misma tendencia se observó cuando las cápsulas fueron obtenidas a partir de emulsiones homogeneizadas a altas revoluciones.

También se observa que las eficiencias de las cápsulas obtenidas a partir de emulsiones homogeneizadas a altas revoluciones fueron menores a las obtenidas a bajas revoluciones. Esto podría estar relacionado con los tamaños medio de las partículas (fase dispersa) más altos obtenidos con el primer homogeneizador respecto del segundo.

Estabilidad oxidativa

El criterio más importante para la selección de un material de pared es su capacidad de retener y sellar toda la sustancia a encapsular dentro de su estructura durante el procesamiento y almacenamiento. Para ello el material de pared debe formar una película continua que recubre todo el material del núcleo, este es un factor de mucha importancia ya que pequeñas alteraciones pueden modificar las propiedades del mismo. Debe constituirse en una barrera que retarde las reacciones químicas con el medio que lo rodea promoviendo un aumento en la vida útil del producto. Además debe ser resistente a la ruptura que evite la liberación del compuesto encapsulado (Fang y Bhandari 2010). Si

el material de la pared no cumple con este criterio, se producirán pérdidas excesivas del relleno en el proceso (Balassa y Fanger 1971). También dará lugar a una sustancial cantidad del material de relleno en la superficie de las microcápsulas, donde es susceptible de ser sometido a la acción del oxígeno atmosférico o a otros factores externos.

La estabilidad oxidativa fue evaluada en las cápsulas que presentaron mayor eficiencia, las cuales correspondieron a una relación de material de pared /relleno, 20:1.

La **Figura 2** muestra las variaciones en la cantidad de malonaldehído presente en el aceite sin encapsular. Se observa que hay oxidación de los lípidos tanto a 25°C como a 60°C. La oxidación de los lípidos en el caso de las muestras almacenadas a 25°C se debe a la acción del oxígeno. La oxidación del aceite sin encapsular almacenado a 60°C al cabo de los 30 días de almacenamiento (0,7 µg de malonaldehído /g de aceite) fue mayor que a 25°C (0,2 µg de malonaldehído /gr de aceite) debida a la acción conjunta del oxígeno y del calor.

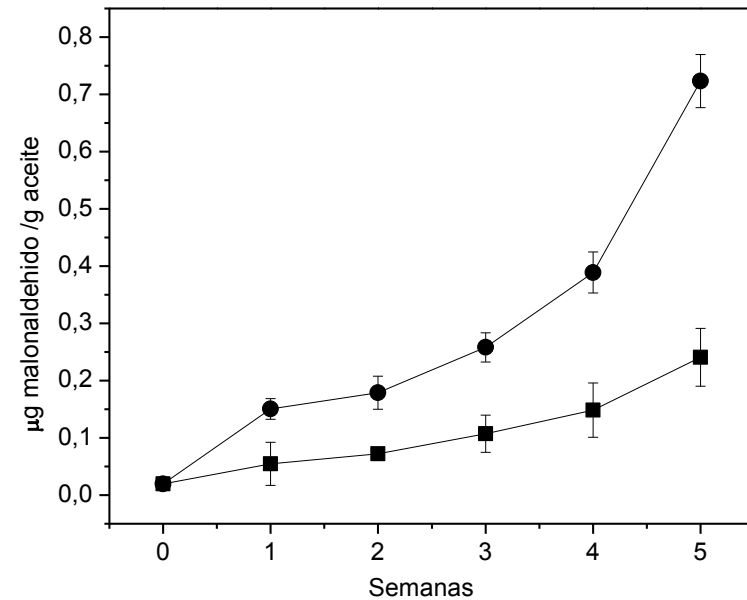


Figura 2: Estabilidad oxidativa de Aceite sin encapsular a: ■25°C y ● 60°C.

El deterioro por oxidación de los aceites es un parámetro de importancia en la industria alimentaria debido a la pérdida del valor nutricional y al desarrollo de "flavors" inaceptables por los consumidores. El enfoque habitual para minimizar la oxidación es mediante la adición de antioxidantes, pero actualmente también se utiliza el procedimiento técnico de la microencapsulación para proteger los aceites sensibles.

En la **Figura 3** se muestra que el aceite encapsulado en una matriz constituida por los hidrocoloides estudiados presentó mayor estabilidad oxidativa que el aceite sin encapsular. El aceite encapsulado en la matriz de mucílago presentó un valor máximo de 0,2 μg de malonaldehído / g de aceite en las condiciones de almacenamiento más desfavorables (60°C) y al cabo de 5 semanas de almacenamiento. Las cápsulas almacenadas a 25°C también presentaron oxidación de los lípidos, pero esta fue menor a la que sufrió el aceite sin encapsular a la misma temperatura. Esto indicaría un efecto protector proporcionado por el proceso de microencapsulación.

En la **Figura 3** también se observa que el aceite encapsulado usando como material de pared MP presentó una estabilidad oxidativa similar al encapsulado con GG y GX durante las dos primeras semanas del ensayo. El efecto protector de la cápsula de mucílago decrece a partir de la tercera semana de almacenamiento.

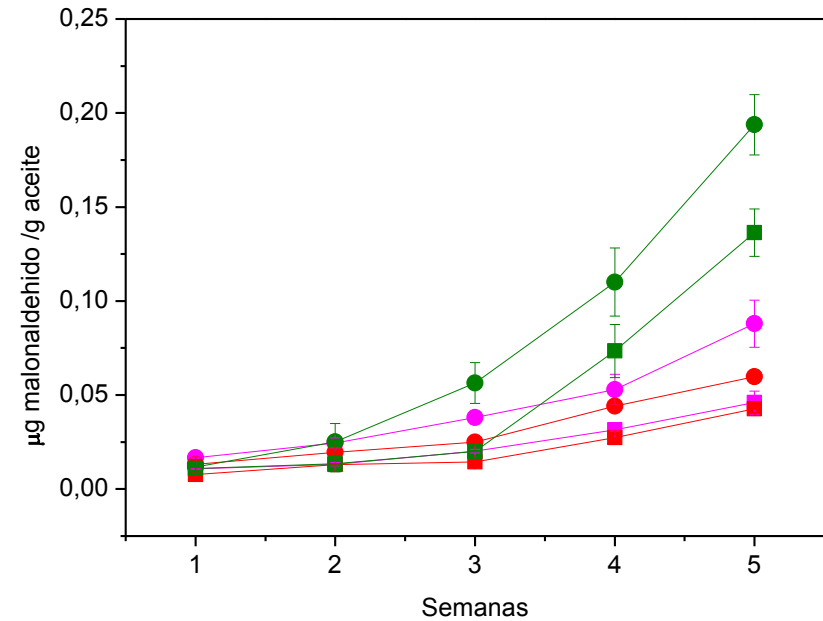


Figura 3: Estabilidad oxidativa de aceite encapsulado a: ■ 25°C y ● 60°C en matriz de: ■ MP, ■ GX, ■ GG.

CONCLUSIONES

En este trabajo se mostró la factibilidad de la utilización del mucílago de tuna, un hidrocoloide natural autóctono, de fácil extracción como agente encapsulante. Presentó eficiencias de encapsulación comparable a la de polímeros de uso comercial. Además protegió el material de relleno frente a la oxidación, constituyéndose entonces en una buena barrera contra este factor adverso.

Estas cápsulas podrían ser usadas en la industria alimentaria, ya que el mucílago es inocuo y considerado como fibra soluble.

BIBLIOGRAFIA

- Balassa, L., & Fanger, G. (1971). Microencapsulation in food industry. *C R C Critical Reviews in Food Technology*, 2: 245-263.
- Barbosa-Cànovas, G, & Vega-Mercado, H. (1996). *Dehydration of foods*. Estados Unidos de América: Chapman and Hall.
- Fang, Z., & Bhandari, B. (2010). Encapsulation of polyphenols - a review. *Trends in Food Science & Technology*, 21, 10. 510-523.
- Garti, N., & Reichman, D. (1993). Hydrocolloids as food emulsifiers and stabilizers. *Food Structure*, 12, 411-426.
- Girgis, N. (1999). *Physical and Technological Studies on Margarine and Shortining*. Minia, Egypt: M.S.C. Thesis, Faculty of Agriculture, Minia University.
- Goycoolea, F., & Càrdenas, A. (2004). Pectins from *Opuntia* spp: a short review. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 5,17-29.
- Hogan, S., Mcnamee, B., O'Riordan, E., & O'Sullivan, M. (2001). Emulsification and microencapsulation properties of sodium caseinate/carbohydrate blends. *International Dairy Journal*, 11,137-144.
- Masters, K. (1991). *Spray Drying Handbook*. New York: Longman.
- Matsuhiro, B., Sàenz, C., Urzù, C., & Zàrate, O. (2006). Chemical characterization of mucilage from fruit of *Opuntia ficus-indica*. *Carbohydrate Polymer*, 63, 263-267.
- McGarvie, D., & Parolis, H. (1981). The mucilage of *Opuntia ficus-indica*. Part 4. The acid-labile, peripheral chains of mucilage of *Opuntia ficus-indica*. *Carbohydrate Research*, 94,57-65.

- Medina-Torres, L., Brito-De La Fuente, E., Torrestiana-Sánchez, B., & Katthain, R. (2000). Rheological properties of the mucilage gum (*Opuntia ficus indica*). *Food Hydrocolloids*, 14,417-424.
- Ratti, C. (2008). *Advances in Food Dehydration*. New York: CRC Press.
- Sankarikutty, B., Sreekumar, M., Narayanan, C., & Mathew, A. (1988). Studies on microencapsulation of cardamom oil by spray drying technique. *Journal of Food Science Technology*, 25, 352–356.
- Sims, R. (1989). Spray dried emulsion. *Developments in Food Science*, 19, 495-509.
- Tang, X., & Pikal, M. (2004). Design of freeze-drying processes for pharmaceuticals: practical advice. *Pharmaceutical Research* , 21, 191-200.

DESARROLLO DE UNA ALTERNATIVA RÁPIDA Y SENCILLA PARA EL MONITOREO DE CARBAMATOS EN MIEL

Sánchez P., Pappolla P., Raco F., Rodríguez M.A.

Laboratorio de Cromatografía y Ensayos Especiales, INTI-Lácteos PTM, San Martín, Buenos Aires, Argentina.
pablos@inti.gob.ar

Resumen: Se desarrolló una metodología analítica para la determinación de residuos de carbamatos en miel, con vistas a ser utilizada en los programas de monitoreo. Para tal fin se siguieron los lineamientos generales de validación del Organismo Argentino de Acreditación (OAA) y del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA). La extracción de los pesticidas de la miel se realizó por una modificación de la técnica QuEChERS, la cual consiste en una extracción con acetonitrilo (ACN) y posterior limpieza del extracto con aminas primarias y secundarias (APS). La detección y cuantificación se realizó por HPLC-FLD ($\lambda_{\text{ex}}=330$ nm, $\lambda_{\text{em}}=465$ nm) con gradiente de elución (agua:acetonitrilo) y derivatización post-columna con orto-ftalaldehído. Los compuestos analizados fueron Aldicarb, Aldicarb Sulfone, Aldicarb Sulfoxide, Carbaryl, Carbofuran y 3-Hydroxy-Carbofuran. El rango de trabajo en el cual se validó la metodología fue de 12,5-100 ng/g de miel en todos los casos. El porcentaje de Recuperación estuvo comprendido entre 60-110% para todos los compuestos. Los valores de Repetibilidad expresados como desviación estándar relativa fueron menores al 18 % para todos los analitos, mientras

que la Precisión Intermedia, expresada también como desviación estándar relativa fue menor al 20% en todos los casos.

Palabras clave: Miel, Carbamatos, Validación, QuEChERS.

Abstract: An analytical methodology for the determination of carbamate residues in honey, in order to be used in monitoring programs, was developed. General guidelines for validation of the Argentine Accreditation Agency (OAA) and National Service of Health and food Quality (SENASA) were followed. Honey pesticides extraction was performed by a modification of the QuEChERS technique, which involves extraction with acetonitrile (ACN) and subsequent cleaning of the extract with primary and secondary amines (PSA). The detection and quantification were performed by HPLC-FLD ($\lambda_{\text{ex}} = 330$ nm, $\lambda_{\text{em}} = 465$ nm) with gradient elution (water: acetonitrile) and post-column derivatization with ortho-phthalaldehyde. The compounds tested were Aldicarb, Aldicarb Sulfone, Aldicarb Sulfoxide, Carbaryl, Carbofuran and 3-Hydroxy-Carbofuran. The working range was 12.5 to 100 ng / g of honey in all cases. Recovery percentage was between 60-110% for all compounds. The values of Repeatability expressed as relative standard deviation was less than 18% for all analytes, while the Intermediate Precision also expressed as relative standard deviation was less than 20%.

Keywords: Honey, Carbamates, Validation, QuEChERS.

INTRODUCCIÓN

La miel es un alimento nutritivo, producido y consumido extensamente por el hombre desde la antigüedad. Según las últimas estimaciones de la FAO, la Argentina produjo en 2012; 75500 toneladas de miel, convirtiéndose en uno de los mayores productores a nivel mundial. Sin embargo, este alimento puede verse contaminado por la presencia de residuos de pesticidas como consecuencia de la actividad agrícola-ganadera. Los Carbamatos son un grupo de compuestos derivados del ácido carbámico (Soriana *et al.* 2001), empleados comúnmente en los cultivos como insecticidas y nematicidas. Poseen efecto neurotóxico como inhibidores reversibles de la enzima colinesterasa. Han demostrado ser tóxicos para el hombre y contaminantes del medio ambiente debido a su rápida diseminación. Si el cultivo agrícola tratado con carbamatos es polinizado por abejas, puede verse afectado el normal desarrollo de las mismas, a la vez que podrían hallarse residuos de estos pesticidas en la miel. Tanto es así, que desde hace algunos años en Europa se vienen utilizando los productos de la colmena, como biomarcadores de calidad ambiental de una región, ya que, las colmenas son reservorios de información muy valiosa sobre la calidad del ambiente en el que se encuentran (Celli y Maccagnani, 2003).

Por estos motivos resulta imprescindible la inclusión de la determinación de carbamatos en miel en los programas de monitoreo nacionales de residuos de pesticidas.

Los métodos utilizados para el análisis de pesticidas pueden ser métodos específicos para determinados compuestos (SRM) o

métodos multiresiduos (MRM) que permiten determinar varios pesticidas bajo el mismo esquema extractivo. Para la determinación de residuos de carbamatos en miel se utilizó el método QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe). El mismo es un método multiresiduo que utiliza menos solventes y materiales en comparación con los métodos convencionales, como por ejemplo la Extracción en Fase Sólida (SPE). QuEChERS fue ideado inicialmente para el análisis de pesticidas en frutas, cereales y hortalizas por lo cual fue necesario realizar algunas modificaciones sobre la metodología original para poder aplicarlo al análisis de mieles (Anastassiades *et al.*, 2003). La cuantificación de los analitos, una vez extraídos de la matriz, se realizó por Cromatografía Líquida de Alta Performance combinado con detector de Fluorescencia. Si bien existe una diversidad de métodos que combinan Cromatografía Gaseosa o Cromatografía Líquida con detectores de Masa o con Masa Tándem, el método por HPLC con detector de Fluorescencia, previa derivatización de los analitos, demostró ser una alternativa selectiva y sensible para la determinación de carbamatos a nivel de trazas (Kom *et al.*, 2008).

Se evaluó el desempeño de la metodología para el uso especificado llevando a cabo un protocolo de validación. Para ello se tomaron como referencia los lineamientos de la Guía de Validación de métodos de ensayo DC-LE-05 del Organismo Argentino de Acreditación (OAA) para compuestos a nivel de trazas, la Disposición 125/2006 del SENASA y el Documento SANCO N° 10684/2011. Los parámetros evaluados fueron los que se indican a continuación: Veracidad, Repetibilidad, Precisión Intermedia, Selectividad, Linealidad, Recuperación, Rango de trabajo, Límite de Detección, Límite de Cuantificación y Robustez.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estándares de pesticidas

Se utilizaron los siguientes estándares de carbamatos provistos por Sigma Aldrich: Aldicarb, 99.9%; Aldicarb Sulfone, 99.4%; Aldicarb Sulfoxide, 96.2%; Carbofuran, 99.9%; Carbaryl, 99.8%; 3-Hydroxy-Carbofuran, 98.3%.

Soluciones Patrón

Las soluciones Stock individuales de 200 µg/ml fueron preparadas diluyendo adecuadamente los estándares sólidos en metanol. Se almacenaron en envases herméticos, al abrigo de la luz, en freezer ($T^{\circ} < -10^{\circ}\text{C}$). A partir de dichas soluciones stock se preparó una solución Mix en metanol conteniendo todos los pesticidas (4 µg/ml). Luego, se realizaron diluciones en una mezcla de agua: acetonitrilo de donde se obtuvieron las soluciones de Trabajo (CTs); 0.25 CT (31.25 ng/ml), 0.50 CT (62.5 ng/ml), 1 CT (125 ng/ml), 1.5 CT (187.5 ng/ml) y 2 CT (250 ng/ml).

Solventes orgánicos y reactivos

Se utilizó acetona para análisis de residuos de pesticidas, acetonitrilo, agua y metanol grado HPLC. Todos los solventes fueron filtrados por filtro de 0,45µm de poro antes de ser colocados en el sistema HPLC. Además se utilizaron los siguientes reactivos sólidos; Hidróxido de Sodio, Tetraborato de sodio anhidro, Sulfato de Magnesio Heptahidratado, Cloruro de Sodio y Aminas Primarias y Secundarias (PSA). Todos ellos calidad para análisis. Orto-Ftalaldehido y Tiofluor grado HPLC.

Instrumentación analítica

Se utilizó un Cromatógrafo Líquido Agilent Technologies 1260 Infinity con inyector automático, termostizador de muestras, bomba cuaternaria y detector de Fluorescencia. Para aumentar la sensibilidad y selectividad en la determinación se utilizó un Derivatizador Post-Columna Pickering Laboratories Pinnacle PCX. Para realizar las pesadas se utilizó una balanza electrónica analítica Sartorius BP211D.

Otros instrumentos utilizados fueron evaporador rotatorio con baño termostizado Heidolph tipo VV1, sonicador Branson, vórtex Precytec, centrífuga Luguimac y refrigerador Patrick.

Extracción y limpieza de la muestra

Se ajustó la metodología de análisis multiresiduo QuEChERS (Anastassiades *et al.*, 2007) para adaptarla al análisis de residuos de carbamatos en miel. Se pesaron $5,0 \pm 0,2$ g de miel en un tubo Falcon de 50 ml (masa de muestra) y se adicionaron con pipeta graduada 10 ml de agua HPLC y con una varilla se homogeneizó la miel. Luego se agregaron 10 ml de acetonitrilo con pipeta de doble aforo. Se homogeneizó la mezcla durante 1 minuto en vórtex y se adicionaron $6,0 \pm 0,1$ g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y $2,0 \pm 0,1$ g NaCl. Se volvió a homogeneizar la mezcla durante 1 minuto en vórtex. Luego se centrifugó a 4000 rpm durante 5 minutos. Se tomaron con pipeta de doble aforo 5 ml del sobrenadante y se dispersaron en un tubo conteniendo 700 ± 5 mg de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y 150 ± 5 mg de PSA. Se agitó en vórtex durante 30 segundos y se centrifugó a 4000 rpm durante 5 minutos. Se trasvasó, con ayuda de una pipeta Pasteur, el

sobrenadante a un balón esmerilado de 50 ml. Se lavó el precipitado con 5 ml de acetonitrilo. Se volvió a centrifugar a 4000 rpm durante 5 minutos. El sobrenadante se colocó en el balón. Luego se concentró en Rotavapor a 38°C, hasta una gota y se evaporó la misma en corriente de nitrógeno hasta sequedad. El residuo se redisolvió, con ayuda de un sonicador, en 0,5 ml de una mezcla de agua:acetonitrilo (90:10). Luego se llevó en vial a 1 ml, se filtró por filtro de membrana de 0,45 µm de poro y se inyectaron en el HPLC 100 µl del extracto.

Condiciones cromatográficas

Para el análisis cromatográfico se utilizó una columna Pickering Laboratories, Carbamate Analysis, C18, 250 mm x 4,6 mm x 5 µm. El gradiente de fase móvil agua:acetonitrilo escogido fue el siguiente: 0 minutos-90% de agua; 35 minutos-34% de agua; 45 minutos-90% de agua; 65 minutos-90% de agua. El flujo fue de 1 ml/min.

La detección fue realizada con detector de Fluorescencia (Longitud de onda de Excitación (λ): 330 nm y Longitud de onda de Emisión (λ): 465 nm).

La derivatización de los carbamatos fue realizada en dos pasos dentro del equipo derivatizador. En el primer reactor, la reacción consistió en una hidrólisis con NaOH 0,2% a 100°C y la segunda reacción fue con OPA en buffer de borato de sodio 0,4% a temperatura ambiente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para el desarrollo de la validación se tomaron como referencia los lineamientos de la Guía de Validación de métodos de ensayo DC-LE-05 del Organismo Argentino de Acreditación (OAA) para compuestos a nivel de trazas, la Disposición 125/2006 del SENASA y el Documento SANCO N° 10684/2011.

Tabla 1: Linealidad, Rango de Trabajo, Límites analíticos (LD y LC) e Incertidumbre de medición (U) estimados para cada analito.

Analito	Linealidad [ng/ml]	R ² *	Rango de Trabajo [ng/g miel]	LD [ng/g miel]**	LC [ng/g miel]**	U = DSR*k*c [k=2, c=ng/g miel]
Aldicarb Sulfóxido Aldicarb	31,25-250	0,995	12,5-100	2,9	12,5	0,40 x c
Sulfone	31,25-250	0,998	12,5-100	1,9	12,5	0,24 x c
3-Hydroxy-Carbofuran Aldicarb	31,25-250	0,997	12,5-100	2,0	12,5	0,14 x c
Carbofuran	31,25-250	0,995	12,5-100	3,00	12,5	0,24 x c
Carbaryl	31,25-250	0,998	12,5-100	1,9	12,5	0,16 x c
	31,25-250	0,997	12,5-100	2,1	12,5	0,16 x c

*Se estableció como requisito para la linealidad un R² ≥ 0,995.

**LD y LC calculados a partir de la pendiente de la recta de calibración (b) y de la desviación estándar de la ordenada al origen (s) según la siguiente expresión; LD = 3,3 x (s/b) y LC = 10 x (s/b).

Linealidad, Rango, Límite de Detección y Límite de Cuantificación

En primer lugar se estableció el Rango de Trabajo, y la metodología a implementar, luego con esta información la linealidad y los límites analíticos, cuyos valores se muestran en la **Tabla 1**. La linealidad se evaluó inyectando por triplicado las soluciones de la curva de calibración; 0.25 CT (31.25 ng/ml), 0.50 CT (62.5 ng/ml), 1 CT (125 ng/ml), 1.5 CT (187.5 ng/ml), 2 CT (250 ng/ml). Se realizó el tratamiento estadístico de los datos, determinando ordenada al origen, pendiente (sensibilidad), coeficiente de regresión y coeficiente de variación porcentual para cada nivel de concentración.

Recuperación, Repetibilidad y Precisión Intermedia

Tabla 2: Valores de Repetibilidad (r) y Precisión Intermedia expresados como Coeficiente de Variación Relativo Porcentual (CV%) hallados para cada analito en cada nivel de concentración.

Analito	Nivel de fortificación n (ng/g miel)	Analista 1		Analista 2		Precisión Intermedia CV%, n=6**
		R (%) (n=3)*	r, CV % (n=3)*	R (%) (n=3)*	r, CV % (n=3)*	
Aldicarb Sulfóxido	12,5	71.32	3.27	106.96	2.03	20.6
	25,0	66.50	7.94	95.31	7.76	20.8
	50,0	72.10	2.14	98.29	10.82	18.6
	75,0	64.73	1.82	95.22	6.01	21.4
	100,0	59.03	4.98	86.52	10.08	22.2
Aldicarb Sulfone	12,5	84.96	4.90	109.12	0.97	13.1
	25,0	82.45	9.01	107.66	3.14	15.5

	50,0	93.24	3.18	105.68	2.84	7.4
	75,0	87.58	2.72	102.81	3.92	9.3
	100,0	78.38	5.38	100.80	4.18	14.3
3-OH-Carbofura n	12,5	96.22	3.94	99.68	4.75	4.0
	25,0	89.26	10.55	96.16	2.50	7.8
	50,0	97.50	2.40	100.42	1.08	2.3
	75,0	91.14	3.49	94.55	4.63	4.2
	100,0	81.05	5.73	96.44	4.00	10.4
Aldicarb	12,5	85.68	5.63	62.95	1.51	16.0
	25,0	79.75	12.57	77.63	9.87	10.2
	50,0	93.95	4.47	77.32	10.32	12.6
	75,0	88.53	2.03	67.55	8.31	15.5
	100,0	81.89	4.28	78.53	1.57	3.7
Carbofura n	12,5	92.09	3.97	95.71	2.20	5.5
	25,0	85.04	11.03	99.98	3.70	11.2
	50,0	97.27	3.22	102.27	2.44	3.7
	75,0	90.92	2.82	94.82	5.41	4.5
	100,0	81.45	4.42	95.76	3.00	9.4
Carbaryl	12,5	87.29	5.25	101.44	1.33	8.6
	25,0	83.71	12.16	98.13	3.22	11.4
	50,0	94.78	2.32	98.89	0.63	2.8
	75,0	88.50	1.69	92.41	6.42	4.9
	100,0	79.77	5.39	93.51	2.83	9.4

*Los valores de Recuperación y Repetibilidad fueron calculados por cada analista por triplicado para cada nivel de fortificación.

**La Precisión Intermedia fue calculada sumando los valores obtenidos individualmente por cada analista.

Se trabajo en condiciones de Precisión Intermedia. Muestras fortificadas para todos los analitos fueron procesadas por dos analistas distintos. Cada analista procesó fortificados por triplicado en cinco niveles de concentración para todos los analitos. Junto con las muestras fue procesado un blanco de reactivos y un blanco de matriz. Se cuantificó contra una curva de calibración de estándares completa. Entre las tandas procesadas por cada analista transcurrió un período de 15 días.

Para cada analito se determinó en cada tanda: Recuperación Porcentual (R%) en cada nivel de fortificación y coeficiente de variación porcentual de Repetibilidad (CV% de Repetibilidad) en cada nivel de concentración.

Por otro lado, se determinaron los CVs% de Precisión Intermedia para cada analito en cada nivel de fortificación, en base a todos los valores obtenidos en la validación (ambos analistas).

Se estableció como requisito previo en la validación que los valores de Recuperación (%) se encontraran, para todos los analitos, en todos los niveles de fortificación en el rango de 60-110%. Por otro lado, para la Repetibilidad el requisito fue CV% de Repetibilidad $\leq 18\%$, mientras que el requisito para la Precisión Intermedia estipulado fue CV% de Precisión Intermedia $\leq 20\%$. Como se observa en la **Tabla 2**, fue posible cumplir con los requisitos fijados en la disposición 125/2006 del SENASA para las tres variables.

Robustez

La Robustez fue evaluada por el método de Youden-Steiner. Se evaluaron seis variables con el análisis de sólo ocho experimentos tal como se muestra en la **Tabla 3**. Las variables fueron escogidas estratégicamente identificando las etapas que pueden afectar los resultados de la determinación. Cada variable se estudió mediante un valor de alta (A...G) y otro de baja (a...g) y se diseñaron ocho pruebas.

Tabla 3: Parámetros a evaluar en el ensayo de Robustez de la determinación de carbamatos en miel.

Variables Evaluadas	Código	M	m	Unidad
Tiempo de agitación de tubo Falcon de 50 ml en la primera etapa	A	90	30	seg
Tiempo de agitación de tubo Falcon de 50 ml en la segunda etapa	B	90	30	seg
Tiempo de Centrifugación del Falcon de 50 ml	C	7	3	min
Velocidad de Centrifugación de Falcon de 50 ml	D	4500	2500	rpm
Tiempo de agitación de Falcon de 15 ml	E	45	15	seg
Temperatura de evaporación en el rotavap	F	45	35	°C

Los resultados de los análisis indican que la metodología es robusta. El único punto crítico hallado en la determinación corresponde al parámetro E.

Selectividad

La metodología desarrollada se considera selectiva. Esta afirmación se desprende del análisis de 20 muestras blanco de miel, sin haberse observado en ellas interferencias significativas con la señal de los analitos.

Veracidad

La veracidad se evaluó mediante la realización de un Ensayo de Aptitud Intralaboratorio. En el mismo una muestra de miel incógnita fue fortificada por un tercer analista y luego ensayada

por los dos analistas involucrados en la validación. Los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla 4**.

Estimación de la Incertidumbre

Se estimó la Incertidumbre para cada sustancia en base a las Recuperaciones porcentuales (R%) para todos los niveles de concentración en condiciones de Precisión Intermedia, de acuerdo a los lineamientos establecidos en la Disposición 06/04 del SENASA. Se dispuso en total de 30 valores de Recuperación Porcentual (R%). Luego, se calculó la Desviación Estándar Relativa (DSR), según la ecuación (1):

$$DSR = \frac{DS_{(R\%)}}{R\%_{(Prom)}} (1)$$

$DS_{(R\%)}$: Desvío Estándar de las R%.

$R\%_{(prom)}$: Recuperación Promedio.

Finalmente, se estimó la Incertidumbre Expandida (U) mediante la ecuación (2):

$$U = DSR \times k \times c (2)$$

Donde;

DSR: Es la Desviación Estándar Relativa calculada para cada analito en base a los valores de Recuperación Porcentual.

c: Es la concentración de analito en la miel.

k: Factor de cobertura que equivale a 2 para un nivel de confianza del 95%.

Tabla 4: Concentraciones halladas por cada analista en el Ensayo de Aptitud Intralaboratorio y estimación de la Veracidad expresada como Bias.

Analito	Analista 1		Analista 2		CC Nominal [ng/g miel]	Bias*
	CC Hallada [ng/g miel]	CV (%)	CC Hallada [ng/g miel]	CV (%)		
Aldicarb Sulfoxide	16.26	2.35	15.65	9.46	24.0	0.34
Aldicarb Sulfone	88.87	1.94	86.77	9.49	97.8	0.10
3OH-Carbofuran	52.42	0.90	52.73	8.95	57.0	0.08
Aldicarb	28.83	1.98	28.39	10.20	31.3	0.09
Carbaryl	24.94	1.51	25.25	9.27	22.7	0.11
Carbofuran	68.46	12.71	72.33	9.69	77.3	0.09

*Bias: Calculado como la diferencia porcentual entre los valores hallados y los valores nominales para cada analito.

CONCLUSIONES

La observación y evaluación de las evidencias experimentales objetivas recopiladas en el presente trabajo sugieren que la metodología estudiada representa una alternativa a considerar para el análisis de residuos de carbamatos en miel. El cumplimiento con los parámetros de validación prefijados demuestran el buen desempeño de la misma en relación al fin propuesto.

Resulta imprescindible trabajar en el desarrollo e implementación de metodologías de análisis que permitan obtener resultados confiables en el menor tiempo posible para poder cumplir con las exigencias industriales y las legislaciones nacionales e internacionales.

BIBLIOGRAFÍA

- Anastassiades M, Lehotay SJ, Stajnbaher D, Schenck FJ. 2003. Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and "Dispersive Solid-Phase Extraction" for the Determination of Pesticide Residues in Produce. *Journal AOAC International*, vol 86 (22), pp 412-431.
- Anastassiades M, Tassdelen B, Scherbaum E, Stajnbaher D. 2007. Recent developments in QuEChERS methodology for pesticide multiresidue analysis. En: Ohkawa H, Miyagawa H & Lee PW (ed) , *Pesticide chemistry: Crop protection, public health, environmental safety*. Wiley-VCH, Weinheim: 439-458.
- Celli G y Maccagnani B. 2003. Honey bees as bioindicators of environmental pollution. *Bulletin of Insectology*, 56(1):137-139.
- Soriano, JM, Jimenez B, Font G, y Molto JC. 2001. Metabolites in water by solid phase extraction and liquid chromatography: a review. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 31: 19-52.
- Kom F, Yigit Y, Das YK, Gurel Y and Yarali C. 2008. Determination of Aldicarb, Propoxur, Carbofuran, Carbaryl and Methidathion Residues in Honey by HPLC with Post-column Derivatization and Fluorescence Detection after Elution from a Florisil Column. *Journal of Food and Drug Analysis*, Vol. 16: 39-45.

TRANSFORMACIÓN DE LOS RESIDUOS DE LA INDUSTRIALIZACIÓN DE *CYNARA CARDUNCULUS* PARA LA OBTENCIÓN DE PRODUCTOS DE MAYOR VALOR AGREGADO.

Santo Domingo C.^{1,2}, Fissore E.N.^{1,2}, Gerschenson L.N.^{1,2}

1: Departamento de Industrias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.

2: Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina
cinthiastd@hotmail.com

Resumen: En el presente trabajo se realizó la caracterización de fracciones de fibra dietaria aisladas a partir de residuos (brácteas y tallos) de la industrialización de alcaucil (*Cynara cardunculus*). El tejido se deshidrató (85°C, 2,5 h) y se molió, obteniéndose una primera fracción de material enriquecido en componentes de pared celular (CWM) de tallo (T) y brácteas (B). El tratamiento de CWM con etanol 80% (v/v) permitió obtener una segunda fracción (AIR). El estudio de la composición de estas fracciones mostró que el contenido de carbohidratos, inulina y ácidos urónicos fue mayor y que el contenido de polifenoles totales fue menor, en los AIR de T y B que en los CWM respectivos. No se observó cambio en el contenido de proteínas. Además, se observó que la capacidad antioxidante evaluada por la reacción de DPPH (2,2-difenil -1-picrilhidrazil) disminuyó prácticamente a la mitad en los AIR respecto a los CWM y por el método FRAP (poder antioxidante de reducción férrica), se redujo un 10% con respecto a los CWM.

Se concluye que las fracciones CWM y AIR de ambos tejidos presentan un alto contenido de polisacáridos de la pared celular, constituyéndose así en una fuente interesante de fibra dietaria.

Palabras clave: *Cynara cardunculus*, fibra dietaria, composición química, actividad antioxidante.

Abstract: In this research it was performed the characterization of different fractions of dietary fiber isolated from industrialization wastes (bracts and stems) of artichoke (*Cynara cardunculus*).

The tissue was dried (85°C, 2,5 h) and milled, obtaining a first fraction enriched in cell wall components (CWM) of stem (T) and bracts (B). The treatment of CWM with ethanol 80% (v/v) allowed obtaining a second fraction (AIR). The study of the composition of these fractions showed that the carbohydrate, inulin and uronic acid contents were higher and the polyphenol contents were lower for T and B AIR in relation to their respective CWM. No changes were observed in protein content. Additionally, the antioxidant capacity evaluated by DPPH (2,2-difenil -1-picrilhidrazil) reaction decreased by almost a half in AIR fractions with respect to CWM fractions and FRAP (ferric reducing antioxidant power) technique showed a drop of 10% for AIR antioxidant activity with respect to values observed for CWM fractions.

It can be concluded that the CWM and AIR fractions obtained from both tissues show a high content of polysaccharides of the cell wall, thus becoming interesting sources of dietary fiber.

Keywords: *Cynara cardunculus*, dietary fiber, chemical composition, antioxidant activity.

INTRODUCCIÓN

Los desechos agro-industriales son una fuente rica en fibra dietaria y generalmente son utilizados como pienso o fertilizantes (Schieber *et al.* 2001), pero sería importante el agregado de valor a los mismos por otras estrategias industriales. A su vez, respondiendo a cambios culturales de la población, actualmente se expenden frutas y hortalizas cortadas para su utilización en la preparación de alimentos generando residuos que se suman a los generados en la industrialización de los tejidos vegetales. El alcaucil (*Cynara cardunculus* var. *scolymus*) es una planta cultivada en climas templados; presenta un capítulo de color verde que se consume. El alcaucil, a lo largo de la cadena de comercialización sufre importantes pérdidas cuantitativas y cualitativas, según el contexto donde se realiza la misma. En góndolas y a temperatura ambiente dura pocos días y las plantas tienen menor valor cuando han soportado heladas, deshidratación, parásitos, plagas (Yommi *et al.* 2001). Los daños por heladas se estiman que son alrededor del 45 %, los mecánicos 15 %, enfermedades 2 %, y plagas 1 % (Firpo 2007). El alcaucil posee muy poca grasa y altos niveles de minerales (potasio, sodio, fósforo), vitamina C, fibra, inulina y polifenoles, hidroxycinamatos y flavonas (Lattanzio *et al.* 1994). La inulina y los polifenoles serían algunos de los promotores de los efectos beneficiosos de esta planta en la salud humana. La inulina es un carbohidrato polidisperso lineal que estimula el crecimiento de bacterias beneficiosas en el colon, mejora el sistema gastrointestinal y el sistema inmunitario (López-Molina *et al.* 2005, Robertfroid 2005). Los beneficios de la fibra dietaria para el

aparato digestivo son ampliamente conocidos por lo cual la Food and Drug Administration-FDA (1993) lo ha considerado como nutriente. El Codex (2009) define la fibra dietaria como los polímeros de hidratos de carbono con diez o más unidades monoméricas que no son hidrolizados por las enzimas endógenas en el intestino delgado de los seres humanos. La fibra dietaria también puede mejorar algunas propiedades funcionales de los alimentos, por ejemplo: aumentar la capacidad de retención de agua, capacidad de retención de aceite, emulsificación y/o formación de gel. De hecho, la fibra dietaria es incorporada a productos alimenticios tales como jaleas, sopas, productos panificados, entre otros, modificando las propiedades de textura, evitando la sinéresis, estabilizando aquellos alimentos con alto contenido en grasa y emulsiones, y mejorando su vida útil. La fibra dietaria se clasifica como soluble o insoluble, en función de su capacidad para formar una solución polimérica cuando se mezcla con agua o no (FAO 1998). La fibra soluble está compuesta por pectinas, inulina, gomas, mucílagos y algunas hemicelulosas, mientras que la celulosa, otros tipos de hemicelulosas y la lignina se incluyen en la fracción insoluble (Davidson y McDonald 1998, Roehrig 1988, Schneeman 1987). Las sustancias pécticas constituyen una gran familia de elementos estructurales de las paredes celulares primarias y regiones intercelulares de las plantas superiores. El principal residuo azúcar es el ácido galacturónico (GalA), el cual está en parte esterificado con metanol y también puede estar parcialmente acetilado (Vincken *et al.* 2003, Ridley *et al.* 2001). Una innumerable cantidad de productos alimenticios poseen a la pectina entre sus ingredientes ya que en la industria es ampliamente utilizada como agente gelante, espesante y estabilizante (Willats *et al.* 2006).

Los polifenoles son metabolitos secundarios de las plantas, que defienden a las mismas de factores bióticos (bacterias, hongos, virus) y abióticos (temperatura, radiación ultravioleta), el estrés, y también se ven implicados en el crecimiento y la reproducción de las plantas (Bravo 1998, Friedman 1997). Muchos estudios se han centrado en las propiedades antioxidantes que posee el alcaucil y han concluido que las mismas estarían estrictamente relacionadas con la fracción polifenólica, compuesta principalmente por ácidos mono y dicafeoilquinico (Lattanzio *et al.* 1994). Puede entonces concluirse que los residuos de la transformación e industrialización del alcaucil podrían utilizarse para el aislamiento de fibra dietaria, agregando valor a la materia prima y, de esta forma, reduciendo la contaminación que ellos provocarían.

El objetivo del presente trabajo fue la caracterización química de fracciones de fibra dietaria aisladas a partir de residuos (brácteas y tallos) de la industrialización de alcaucil (*Cynara cardunculus*).

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de la fracción enriquecida en material de pared celular (CWM)

Se utilizaron alcauciles (*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus*) adquiridos en un mercado local. Se separó el tallo (T) de las brácteas (B) y el corazón se descartó. Mediante un extractor doméstico de jugo, se obtuvo el mismo de cada tejido y se lo descartó. Por otro lado, cada residuo sólido se secó en estufa con convección a 85 °C durante 2,5 horas (velocidad del aire: 0,5 m/s). El residuo seco se molió en un molinillo doméstico (Wemir

E 909, Argentina) y constituyó la fracción enriquecida en material de pared celular (CWM) de tallos y brácteas.

Obtención de la fracción residuo insoluble en alcohol (AIR)

De acuerdo a Martin-Cabrejas *et al.* (1994), a 100 g de CWM de tallo o brácteas de alcaucil se le agregaron 350 ml de etanol 80 % (v/v), se llevó a ebullición durante 30 minutos con agitación constante y se filtró descartando el líquido. Al residuo se le agregaron 350 ml de etanol 80% (v/v) y se dejó en ebullición 15 minutos. Se filtró descartando el líquido y se realizaron 2 calentamientos de 15 minutos con 250 ml de etanol 80% (v/v) en ebullición cada uno. El residuo se lavó dos veces, primero con 100 ml de etanol 80 % (v/v) y el segundo con 100 ml de etanol 96% (v/v). El residuo filtrado se liofilizó (congelación con N₂ líquido; sublimación a presión de cámara de 1000 µm Hg y temperatura de bandeja de 25°C) y luego se molió, constituyendo la fracción AIR.

Evaluación del rendimiento

El rendimiento (%) de ambas fracciones se determinó como la relación entre la cantidad de fracción resultante después de liofilización respecto a la cantidad de tejido vegetal usado.

Determinación de Hidratos de Carbono en AIR y CWM

La determinación del contenido de hidratos de carbono no celulósicos, celulosa y lignina se realizó mediante la hidrólisis sulfúrica de la pared celular presente en las fracciones y de acuerdo a Ng *et al.* (1998).

La determinación se realizó pesando aproximadamente 0,3 g de muestra (CWM o AIR) en 2080 µl de solución de ácido sulfúrico 72 % (v/v), durante 3 horas a temperatura ambiente. A continuación, se agregó suficiente cantidad de agua desionizada de manera de tener una concentración final 1 M en ácido sulfúrico (~ 25 ml). Cada muestra fue luego calentada a 100 °C durante 2,5 horas en un baño de agua. La dispersión resultante fue enfriada, centrifugada durante 10 min a 12000 x g y, finalmente, se separó el sobrenadante. El mismo se neutralizó cuidadosamente y el contenido de hidratos de carbono totales (celulosa y no celulósicos) se determinó por el método del fenol-sulfúrico (Dubois *et al.* 1956). El residuo se lavó tres veces con agua desionizada, se centrifugó durante 10 min a 12000 x g y, finalmente, se liofilizó para luego pesarlo e informarlo como lignina.

Se llevó a cabo un segundo procedimiento con otra porción de ~ 0,3 g de cada muestra a las cuales se les agregó 2080 µl de solución 72 % (v/v) de ácido sulfúrico; se dispersó el material y se agregó agua inmediatamente para alcanzar una dilución final en ácido sulfúrico 1 M, seguida de calentamiento por 2,5 horas a 100 °C. Se procedió a continuación igual que en el caso anterior. El residuo final obtenido y pesado corresponde a celulosa y lignina, por lo tanto los hidratos de carbono totales contenidos en el sobrenadante estaban constituidos por polisacáridos no celulósicos.

El tercer procedimiento de hidrólisis se llevó a cabo con otra porción ~ 0,3g de cada muestra, seguida por la técnica aplicada durante el segundo procedimiento, pero en este caso se aplicó una hora de calentamiento a 100 °C en un baño de agua. Solo se separó el sobrenadante para la cuantificación como se indicó previamente, determinándose el contenido de ácidos urónicos

por el método espectrofotométrico de Filisetti-Cozzi y Carpita (1991).

Determinación de Carbohidratos Totales

La determinación de carbohidratos totales se realizó según el método de Dubois *et al.* (1956) que utiliza fenol – ácido sulfúrico, midiendo la absorbancia del sistema a 490 nm y utilizando fructosa para la curva estándar. El color desarrollado es proporcional al contenido de azúcares presentes.

Determinación de Ácidos Urónicos

La determinación de ácidos urónicos se realizó mediante la técnica reportada por Filisetti-Cozzi y Carpita (1991), agregando ácido sulfámico – sulfamato de potasio a las muestras para suprimir el pardeamiento de los monosacáridos que fueron liberados y calentando con una mezcla de ácido sulfúrico – tetraborato. Se evaluó la absorbancia a 525 nm y la curva de calibración se realizó con una solución estándar de ácido galacturónico.

Determinación de Proteínas

El contenido proteico se determinó en el sobrenadante obtenido del primer procedimiento mediante el ensayo de Lowry *et al.* (1951). Se utilizó albúmina de suero bovino (BSA) como estándar y la lectura se realizó a 660 nm.

Determinación de Inulina

La determinación del contenido de inulina se realizó por el método 999.03 propuesto por la AOAC (Quemener *et al.* 1993) utilizando un conjunto de reactivos adecuados para determinar fructanos (Fructan Assay Procedure, Megazyme, Irlanda). El ensayo permite medir la cantidad (% m/m) de fructanos que posee la muestra sin interferencia de azúcares reductores y de sacarosa.

Determinación de Polifenoles Totales

Para la determinación del contenido de polifenoles totales se utilizó el reactivo de Folin-Ciocalteu (Bunzel *et al.* 2000, Singleton y Rossi 1965) después de la hidrólisis de cada fracción para liberar grupos fenólicos vinculados. Se evaluó la absorbancia a 765 nm y se utilizó una solución de ácido gálico como estándar para la curva de calibración.

Determinación de Actividad Antioxidante

La evaluación de la actividad antioxidante se realizó por las técnicas de DPPH (2,2-difenil -1-picrilhidrazil) y FRAP (poder reductor antioxidante sobre el hierro).

El ensayo del DPPH se realizó de acuerdo con Brand-Williams *et al.* (1995). La actividad antioxidante determinada mediante este ensayo permite la determinación de la capacidad de los compuestos de la muestra para actuar como eliminadores de radicales libres o donantes de hidrógeno. Se utilizaron ácido ascórbico y trolox como estándares y se evaluó la absorbancia a 517 nm.

El ensayo de FRAP se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito por Benzie y Strain (1996) y Pulido *et al.* (2000). Este método mide la capacidad antioxidante para reducir el complejo Fe^{3+} / tripiridil-s-triazina (TPTZ) a la forma ferrosa. Se utilizaron trolox y ácido ascórbico como estándares y se evaluó la absorbancia a 595 nm.

Todos los ensayos se realizaron por duplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización química del AIR y del CWM

El rendimiento obtenido de fracción CWM fue de 21 g/100 g de tejido fresco de tallo y de 14 g/100 g de tejido fresco de brácteas. La fracción AIR se obtuvo con un rendimiento de 13 g/100 de tejido fresco y de 11 g/100g de tejido fresco para tallo y brácteas, respectivamente.

Las fracciones aisladas CWM y AIR de cada tejido, presentaron un alto contenido de carbohidratos (**Tabla 1**) con valores de 81 y 86 g/100g fracción para AIR de T y B, respectivamente; y de 59 y 66 g/100g fracción para CWM de T y B, respectivamente.

Como puede observarse en la **Tabla 1**, los carbohidratos de todas las fracciones están principalmente constituidos por no celulósicos: 45 y 52 g/100g fracción para AIR de T y B, respectivamente y 41 y 51 g/100g fracción para CWM de T y B, respectivamente.

El contenido de celulosa fue mayor en brácteas (19 – 22 g/100g fracción) que en tallo (8 – 8,7 g/100g fracción) y fue ligeramente mayor en el AIR que en el CWM de cada tejido.

El contenido de inulina fue casi el doble (~ 8 – 12 g/100g fracción para AIR de T y B con respecto al observado para sus

respectivos CWM (~ 3 – 6 g/100g fracción) y fue mayor en tallo que en brácteas. Wouters (2011) estudió el contenido de inulina de las hojas y el corazón de alcaucil fresco y reportó concentraciones de 3 a 10 g de inulina por cada 100 gramos de alcaucil fresco.

Tabla 1: Composición^{1,2} de las fracciones ricas en fibra (CWM y AIR) obtenidas de tallo y brácteas de alcaucil.

Muestra	CWM Tallo	AIR Tallo	CWM Brácteas	AIR Brácteas
Carbohidratos totales (g/100g)	59,1 ± 1,5	81,3 ± 7,9	65,8 ± 5,4	86,4 ± 3,2
Carbohidratos no celulósicos (g/100g)	40,65	45,2	51,05	52,4
Celulosa (g/100g)	8,0 ± 0,6	8,7 ± 1,3	18,9 ± 0,9	22,2 ± 3,1
Lignina (g/100g)	11,0 ± 0,8	15,1 ± 1,3	14,8 ± 1,5	15,1 ± 0,1
Ácidos urónicos (g/100g)	3,9 ± 0,1	5,3 ± 0,1	3,0 ± 0,1	3,9 ± 0,1
Inulina (g/100g)	6,5 ± 0,6	11,9 ± 0,8	3,2 ± 0,4	7,9 ± 1,2
Proteínas (g/100g)	9,0 ± 0,3	9,0 ± 0,5	8,8 ± 0,0	8,5 ± 0,8
Polifenoles totales (g/100g)	0,6 ± 0,0	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,0	0,4 ± 0,0

¹Expresado como g/100 g de materia seca.

²Los resultados se expresan como: media ± desvío estándar

El contenido de ácidos urónicos también fue superior en los AIR (~ 5 g/100g fracción para T y ~ 4 g/100g fracción para B) en comparación con sus respectivos CWM (~ 4 g/100g y ~ 3

g/100g fracción). Fissore (2009) encontró una mayor cantidad de ácidos urónicos en el AIR de mesocarpio de calabaza y remolacha (12 - 14 g/100g AIR) debido a que estos tejidos vegetales son más ricos en pectinas.

No se observaron diferencias en el contenido de proteínas que fue de ~ 9 g/100g en las cuatro fracciones estudiadas.

El contenido de polifenoles totales fue menor (~20 %) en los AIR de T y B (~ 500 y ~ 400 mg/100g) que en los correspondientes CWM (~ 600 y ~ 500 mg/100g), lo cual puede atribuirse al tratamiento térmico en etanol realizado para la obtención del AIR. El contenido de compuestos fenólicos es importante en relación a la actividad antioxidante que puede llegar a ejercer la adición de esta fracción como ingrediente de productos funcionales o como antioxidante natural para el propio alimento. El contenido de lignina para AIR y CWM de brácteas fue de ~ 15 g/100g fracción mientras que, para tallo, el mismo fue de 15 g/100g fracción en el AIR y 11 g/100g fracción en el CWM.

Actividad antioxidante del AIR y del CWM

En la **Tabla 2** se observa la actividad antioxidante de las fracciones aisladas de tallo y brácteas de alcaucil. El método de DPPH mostró resultados superiores a los del método FRAP.

Según el método de DPPH, la fracción CWM presentó mayor actividad antioxidante que la fracción AIR para ambos tejidos y el CWM de tallo presentó mayor actividad antioxidante que el CWM de brácteas mientras que para AIR de tallo y brácteas, los valores obtenidos fueron los mismos. Gouveia y Castilho (2012) reportaron resultados superiores con DPPH (3770 µmol de Trólox/ 100 g) cada 100 gramos de extracto seco de alcaucil.

Las propiedades reductoras de las muestras evaluadas por el ensayo de FRAP mostraron que la fracción CWM de ambos tejidos presentó considerablemente mayor actividad antioxidante que sus respectivos AIR. El CWM de tallo presentó una actividad antioxidante ligeramente mayor que el CWM de brácteas. La misma tendencia se observó para los AIR.

Las fracciones AIR presentaron una reducción del 10% con respecto las fracciones CWM para cada tejido estudiado. En un trabajo que realizaron Lu *et al.* (2011), se obtuvieron valores de 438 μmol de Trólox/ 100 g en cebolla blanca fresca y 640 μmol de Trólox/ 100 g en echalotte fresco, valores inferiores a los observados para las fracciones CWM de T y B (1239 y 1159 μmol de Trólox/ 100 g) en esta investigación.

Tabla 2: Actividad antioxidante^{1,2} de las fracciones CWM y AIR obtenidas a partir de tallo y brácteas de alcaucil.

	Técnica de DPPH		Técnica FRAP	
	Acido ascórbico ($\mu\text{mol}/100\text{g}$)	Trólox ($\mu\text{mol}/100\text{g}$)	Acido ascórbico ($\mu\text{mol}/100\text{g}$)	Trólox ($\mu\text{mol}/100\text{g}$)
CWM tallo	2215 \pm 170	2200 \pm 160	1249 \pm 114	1239 \pm 120
CWM brácteas	1363 \pm 170	1358 \pm 160	1192 \pm 0	1159 \pm 0
AIR tallo	681 \pm 0	679 \pm 0	170 \pm 57	160 \pm 80
AIR brácteas	681 \pm 57	679 \pm 40	114 \pm 57	120 \pm 40

DPPH: 2,2-difenil -1-picrilhidrazil.

FRAP: poder reductor antioxidante sobre el hierro.

¹Expresado como $\mu\text{mol}/100\text{g}$ de materia seca.

²Los resultados se expresan como: media \pm desvío estándar

CONCLUSIONES

Se puede concluir que las fracciones CWM y AIR aisladas de ambos tejidos presentan un alto contenido de polisacáridos de la pared celular constituyéndose así en una interesante fuente de fibra dietaria. La fracción AIR presenta un mayor contenido de carbohidratos, ácidos urónicos e inulina pero una menor actividad antioxidante lo que se atribuye al menor contenido de polifenoles, en comparación con la fracción CWM.

Las fracciones aisladas exhiben diferentes características tecnológicas y se pueden aplicar como aditivos alimentarios o ingredientes para el desarrollo de alimentos saludables.

BIBLIOGRAFÍA

- Benzie I, Strain J. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of Antioxidant Power: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239: 70 - 76.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel, Wissenschaft und Technologie*, 28: 25 - 30.
- Bravo L. 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 56: 317-333.
- Bunzel M, Ralph J, Marita J, Steinhart H. 2000. Identification of 4-O-5'-coupled diferulic acid from insoluble cereal fiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 3166-3169.
- Codex 2009. Report on the 30th session of the Codex Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses. ALINORM 09/32/26, Appendix II (p. 46). Rome: Codex Alimentarius Commission.
- Davidson MH, McDonald A. 1998. Fiber: forms and function. *Nutrition Research*, 18: 617-624.
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Robers PA, Smith F.1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28: 350 - 356.
- FAO 1998. Food Agriculture Organization.
- F.D.A. Food and Drug Administration. Department of Health and Human Services. 1993. "Health Claims: fruits and vegetables and cancer". En: *F.D.A., Code of Federal Regulations*. Vol.2, Tit. 21, Cap. I, Subcap. B, Part. 101, Subpart. E, Section 101.78. Rockville, MD, EE.UU.

- Filisetti-Cozzi TMCC, Carpita NC. 1991. Measurement of uronic acids without interference from neutral sugars. *Analytical Biochemistry*, 197: 157–162.
- Firpo IT. 2007. Procesos, daños y pérdidas poscosecha del alcaucil en el Cinturón Hortícola de Rosario. *Revista de Investigaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias - UNR Año VII - N° 12*: 015- 023.
- Fissore E. 2009. Obtención de productos enriquecidos en pectina a partir de residuos de la industrialización de calabaza (*Curcubita moschata* Duch ex Poiret) y remolacha (*Beta vulgaris* L. var. *Conditiva*) y su caracterización. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.
- Friedman M. 1997. Chemistry, biochemistry, and dietary role of potato polyphenols. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 45:1523-1540.
- Gouveia SC, Castilho PC. 2012. Phenolic composition and antioxidant capacity of cultivated artichoke, Madeira cardoon and artichoke-based dietary supplements. *Food Research Internacional*, 48: 712-724.
- Lattanzio V, Cardinali A, Di Venere D, Linsalata V, Palmieri S. 1994. Browning phenomena in stored artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads: Enzymic or chemical reactions? *Food Chemistry*, 50: 1–7.
- López-Molina D, Navarro-Martínez MD, Rojas Melgarejo F, Hiner A, Chazarra S, Rodríguez-Lopez JN. 2005. Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from Artichoke (*Cynara scolymus* L), 66:1476-1484.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193: 265–275.
- Lu X, Wang J, Qadiri AMH, Ross FC, Powers RJ, Tang J, Rasco AB. 2011. Determination of total phenolic content and antioxidant capacity of onion (*Allium cepa*) and shallot (*Allium oschaninii*) using infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 129: 637-644.
- Martin-Cabrejas MAM, Waldron KW, Selvendran RR. 1994. Cell wall changes in spanish pear during ripening. *Journal of Plant Physiology*, 144: 541 - 548.
- Ng A, Parr AJ, Ingham LM, Rigby NM, Waldron KM. 1998. Cell wall chemistry of carrots (*Daucus carota* CV. Armstrong) during maturation and storage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46: 2933 – 2939.
- Pulido R, Bravo L, Saura-Calixto F. 2000. Antioxidant of dietary polyphenols as determined by a modified Ferric Reducing Antioxidant Power assay *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46: 3396-3402.
- Quemener B, Thibault JF, Coussement P. 1993. Determination of inulin and oligofructose in food products, and integration in the AOAC method for measurement of total dietary fibre. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 27: 125-132.
- Ridley B, O'Neill MA, Mohnen D. 2001. Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signalling. *Phytochemistry*, 57: 929-967.
- Robertfroid. 2005. Introducing inulin-type fructans. *British Journal of Nutrition*, 93: 13–25.
- Roehrig KL. 1988. The physiological effects of dietary fiber. *Food Hydrocolloids*, 2: 1-18.
- Schieber A, Stintzing FC, Carle R. 2001. By-products of plant food processing as a source of functional compounds—recent developments. *Trends in Food Science and Technology*. 12: 401–413.

- Schneeman BO. 1987. Soluble vs. insoluble fiber-different physiological responses. *Food Technology*. 41 (2): 81- 82.
- Singleton VL, Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdicphosphotungstic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16: 144-158.
- Vincken JP, Schols HA, Oomen RJFJ, McCann MC, Ulvskov P, Voragen AGJ, Visser RGF. 2003. If homogalacturonan were a side chain of rhamnogalacturonan I. Implications for cell wall architecture. *Plant Physiology*, 132: 1781-1789.
- Willats WGT, Knox JP, Mikkelsen JD. 2006. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. *Trends in Food Science and Technology*, 17: 97-104.
- Wouters R. 2011. Food stabilisers, thickeners and gelling agents. Alan Imeson. Editorial Wiley – Blackwell, 1: 181.
- Yommi A, Giletto C, Horvitz S, López C. A. 2001. Effects of temperature and semi-permeable films on quality of stored artichokes (*cynara scolymus* L). *Acta Horticulturae* 553: 619-620.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo financiero brindado por la Universidad de Buenos Aires UBACYT (089, 726, 550BA y 553BA); PIP (531, 507); ANPCyT (PICT 2005-38239, 2013-2088, 2012-1941).

GUAVAS (*PSIDIUM GUAJAVA* L.) STORAGE UNDER CONTROLLED ATMOSPHERE AND REFRIGERATION

**Souza C.C.¹, Meireles B.R.L.A¹, Maranhão C.M.¹, Lima S.E.R.¹,
Vieira D.M.¹, Ferreira V.C.S.¹, Farias A.F.¹, Madruga M.S.¹**

1: Post-graduation Program in Science and Food Technology, Technology Center, Federal University of Paraíba – (PPGCTA /CT /UFPB), Campus I, 58051-900, João Pessoa, Paraíba, Brazil. cassiarapb@yahoo.com.br

Resumen: La Guayaba (*Psidium guajava*) es una fruta climatérica y por lo tanto tiene altas tasas de transpiración y pérdida de peso. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la influencia del almacenamiento post-cosecha de guayaba refrigerada (*Psidium guajava* L.) en atmósfera modificada. Los frutos obtenidos en João Pessoa - PB fueron seleccionados de acuerdo a tres etapas de madurez: fruta verde (más de 75% de color de la corteza verde oscuro), fruta semi madura (más de 75% de color de la corteza verde claro) y fruta madura (cáscara totalmente amarilla). Luego fueron cubiertos con film de PVC y almacenados en condiciones de refrigeración. Se evaluaron los parámetros de pérdida de masa, longitud, diámetro, color, textura, pH, sólidos solubles totales (SST) y sensoriales a los días 0, 2 y 5 de almacenamiento. Los frutos tuvieron tasas más altas de pérdida de masa en el quinto día de almacenamiento acompañado por una reducción en la longitud y el diámetro. El pH y la TSS aumentaron con el tiempo de almacenamiento. En el análisis sensorial, los parámetros de dulzura y jugosidad mostraron diferencias significativas entre las muestras. Por lo tanto, el

almacenamiento de guayabas refrigeradas en atmósfera modificada, ha demostrado ser un método eficaz para la preservación de las características sensoriales de las frutas.

Palabras clave: post cosecha, *Psidium guajava* L, etapas de maduración

Abstract: Guava (*Psidium guajava*) is a climacteric fruit therefore presents high transpiration rates and mass loss. This study aimed to evaluate the influence of postharvest conservation of red pulp guava (*Psidium guajava* L.) subjected to refrigeration and modified atmosphere (MA). The fruits, obtained in João Pessoa - PB, were selected according to three distinct stages of maturation: green fruits (more than 75% dark green shell), semi-mature fruits (more than 75% light green shell) and mature fruits (100% of the color shell yellow), covered with PVC film and stored under refrigeration. The parameters of mass loss, length, diameter, color, texture, pH, total soluble solids and sensory were evaluated on 0, 2 and 5 days of storage. The fruits showed a higher percentage of mass loss on the fifth day of storage accompanied by a reduction in length and diameter. The pH and TSS values increased with the storage time. In the sensory analysis, the sweetness and juiciness parameters showed a significant difference between samples. Thus, the guavas stored under refrigeration in modified atmosphere, has proved to be an efficient method for sensory characteristics preservation of these fruits.

Keywords: Post-harvest, *Psidium guajava* L., Stages of maturation

INTRODUCTION

Brazil is the third largest fruit producer in the world, after China and India (FAO, 2010; MAPA, 2010). Guavas cultivars (*Psidium guajava*) is naturalized in tropical and subtropical parts, belong to Myrtaceae family and is one of the most nutritious fruit and source of vitamin C (Patil *et al.* 2014). The skin and flesh colour varies between cultivars depending on the type and amount of pigments. Important differences exist in the accumulation of a significant number of compounds between these cultivars., even though there are many other compounds common to all *P. guajava* cultivars, Differences in these profiles may subsequently result in changes in antioxidant activity or other bioactivities (Flores *et al.* 2015). The protective effects of fruits on human health have been mainly attributed to their high concentrations of bioactive compounds with antioxidant properties (Sdiri *et al.* 2012). The Brazilian Northeast is, currently, the national greater guavas producer region, standing out Pernambuco and Bahia states due to their hydrological potential and favourable soil conditions (Freitas 2010). However, fresh guavas exportation has been restricted because its high perishability and susceptibility (Osorio *et al.* 2011). As a climacteric fruit, presents intense metabolism during ripening process, aging sharply, hampering long period of storage (Siqueira *et al.* 2014).

These changes have crated the need to develop and application of new technologies to extend post-harvest storage and quality maintenance. Controlled atmospheres (CA), with low-O₂ and high-CO₂, have been used successfully to reduce decay, maintain quality and extend storage life in many fruit (Selcuk and Erkan 2015). The use of modified atmosphere (AM) and refrigerated package arises as an alternative to enhance fruit useful life and

add value to the product. The modified gaseous environment by the natural process of respiration and the restricted gas exchange depending on the permeability of the packaging material after a transient period (Singh *et al.* 2014). The method of preservation choice is a key, particularly for food that contains high quantities of bioactive compounds (Nora *et al.* 2014).

Fresh-cut vegetable forms an important component of the healthy diet because of its advantage of minimal or no further processing prior to consumption (Xing *et al.* 2010). Appearance and texture changes are two fundamental characters determining the acceptability of fresh-cut fruit and vegetables. The understanding of the processes leading to these changes is essential in developing better approaches to minimizing them and, hence, improving quality and shelf life for the consumer (Toivonen and Brummell 2008). The minimum processing aims to supply a product with similar characteristics to the fresh fruit. However, its storage below 10 °C may cause severe chilling injury symptoms in the form of skin surface pitting and flesh (Zambrano-Zaragoza *et al.* 2013). Thus using package with modified atmosphere becomes interesting due to its influence in physiological and biochemical process on the vegetable minimally processed, as so on the reduction of microbiological proliferation, retarding its aging (Arruda *et al.* 2011). However, there is a lack of information about guava's ripening behaviour under the use of modified atmosphere and refrigerated storage. Given these points, this paper aimed to assess the influence of the maturation degree and the modified atmosphere under refrigeration on the physical and chemical characteristics of the post-harvest guava.

MATERIAL AND METHODS

Raw material

Guavas were acquired at local trade at the city of João Pessoa, Paraíba, Brazil, being selected in function of the maturation state, size uniformity and coloration. At the laboratory, the fruits were submitted to the following processing stages: Healthy fruit selection, washing in potable running water and disinfection with 50 ppm sodium hypochlorite, for 15 minutes, drying with paper towel and distribution at foam trays. The experimental design used was entirely random in a factorial 2² scheme (maturation stage x storing days), with 3 repetitions (trays) composed of 3 fruits each. The guavas were recovered with a polyvinyl polychloride (PVC) film (modified atmosphere), under refrigerated storage (10 °C) and evaluated at 0, 2 and 5 days of storage.

The fruits were divided in three maturation stages: stage 1 (S1), fruits with 100% green peel, stage 2 (S2), fruits with green/yellow peel and stage 3 (S3), fruits with 100% yellow peel.

Physical analyses

Loss of mass: fruit mass was verified with 0, 2 and 5 days of storage. The mass was determined through semi-analytical balance MK 2000B – Ohyo and results were expressed as percentage, considering its initial mass and those from each evaluation.

Length and diameter: Longitudinal and transversal diameter (mm) were measured with a steel calliper, Mitutoyo brand, with a 0,1 mm precision, with 0 and 5 days of storage.

Physicochemical analyses

Peel colour: Determined according to Abularach *et al.* methodology (1998), using a digital colorimeter (Konica Minolta, model CHROMA METER CR-400), to read L* (luminosity), a* (red/green intensity) and b* (yellow/blue intensity) parameters.

pH: Determined at mashed fruits using pHmetro digital (DIGIMED, model pH 300M, São Paulo, Brazil) provided with a glass electrode (ANALYSER, model 2^a13-HG, São Paulo), calibrated with buffer solution pH 7,0 and 4,0, following parameters described by method 947.05 (AOAC 2000).

Texture: Determined using texturometer from Extralab Brasil, model TA-XT Plus *Texture Analyser*, with cylindrical probe P/3. The read analyses were made and recorded at *software* (STABLE MICRO SYSTEMS®, TE32L, version 4.0, Surrey, England), and results were expressed in newton (N).

Total soluble solids (TSS): Determined using lab bench refractometer, previously calibrated with distilled water. Results were expressed as °Brix according to method 932.12 (AOAC 1997).

Statistical analyses

Tukey test was used to analyse difference between averages ($p \leq 0.05$). The statistical analyses were realized using statistic software Assistat 7.7, adopting 5% significance level.

RESULTS AND DISCUSSION

According to the results displayed at **Table 1**, it may be seen that guavas fruit submitted high mass loss on the fifth storage day. The same behaviour was found by Maciel *et al.* (2008) and Azzolini *et al.* (2004) for guavas stored at $25 \pm 1^\circ\text{C}$ and $80 \pm 5\%$ UR. According to Maciel *et al.* (2008), the increase on the loss of mass presented on the analysed fruits is a result of the physiological activity specific of each fruit, where the respiration rates increases in function of temperature and water loss by transpiration. As the length and diameter values had negative correlation with the water loss percentage, the fruits stated reduction on the average values for these parameters.

Table 1: Average values of loss of mass, length and diameter of guavas at different stages of maturation during modified atmosphere storage

Fruit	Maturation stage	Storage days					
		Loss of mass (%)			Length (cm)		Diameter (cm)
		0	2	5	0	5	0
Guava	S1	0.00	0.21	0.42	74.58	73.46	60.58
	S2	0.00	0.25	0.35	83.16	81.51	60.52
	S3	0.00	0.09	0.30	77.12	75.20	62.76

The colour parameters (L*, a* and b*) had greater influence of different maturation stages (Table 2), whereas the storage time influenced, mainly, the parameters a* and b*.

Table 2: Luminosity (L*) and chroma parameters (a*, b*) of guavas at different stages of maturation during modified atmosphere storage

Maturation stage	Storage days	L* a* b*											
		L*			a*			b*					
		0	2	5	0	2	5	0	2	5			
Guava	S1	56.69 ^c _A	56.74 ^c _A	59.20 ^c _A	-	-	-	18.51 ^a _A	19.82 ^a _A	18.57 ^a _A	37.71 ^c _B	40.42 ^b _A	39.56 ^{ca} _B
	S2	69.33 ^b _A	65.44 ^b _A	69.51 ^b _A	-	-	-	10.02 ^b _B	17.19 ^b _A	8.89 ^{bb} _B	45.02 ^b _A	46.44 ^a _A	44.34 ^b _A
	S3	75.85 ^a _A	76.52 ^a _A	74.58 ^a _A	-	-	-	5.06 ^{ca} _A	1.66 ^{cb} _B	4.89 ^{ca} _A	48.32 ^a _A	46.70 ^a _A	47.73 ^{aa} _A
VC (%)		6.08			17.63			5.12					

^{a,b} Average followed by the same lowercase, at column, do not differ from each other by Tukey test at 5% probability (p<0.05);
^{A,B} Average followed by the same uppercase, at line do not differ from each other by Tukey test at 5% probability (p<0.05);
 VC = variation coefficient

After analyse of a* parameters values, fruits could be classified according to the decrease in green coloration and the increase of yellow coloration for guavas at different maturation stages (S1, S2 and S3). Although, L* and b* parameters had not been affected (p > 0.05) by the modified atmosphere storage time, with exception for the S1 maturation stage for b parameter. The changes on guavas colour parameters occur, mainly, due to biochemical changes that happen during storage and they are caused by chlorophyll degradation (belonging to chloroplasts) and for the syntheses or revelation of other pigments with carotenoids and anthocyanin (Azzolini *et al.* 2004).

The values of pH, TSS and fruit texture were presented on **Table 3**. For the S2 and S3 stages, pH values showed the same behaviour with storage time, and at the fifth day of storage, all three stages stated the highest pH values, indicating acidity reduction. Acidity reduction and pH growth are typical of the fruits aging phase and derive from the metabolism of organic acids (Botrel *et al.* 2010). For the TSS values, it is notable that fruits submitted growth in these sugars during storage time. According to Chitarra and Chitarra (2005), growth in soluble solids values is due to polysaccharides degradation, favourable by the action of aging, with therefore fruit ripening.

Table 3: Average values of pH, total soluble solids (°Brix) and texture of guavas at different stages of maturation during modified atmosphere storage

Maturation stage	Storage days								
	pH			Total soluble solids (SST)			Texture (N)		
	0	2	5	0	2	5	0	5	
S1	4.02 ^{CB}	4.04 ^a _B	4.18 ^{BA}	5.22 ^{CB}	8.25 ^{ab} _A	8.75 ^{aA}	12.34 ^a _A	13.67 ^a _A	
Guava	4.27 ^{aA}	4.02 ^a _B	4.25 ^{aA}	6.25 ^b _B	7.42 ^{bA} _A	7.67 ^b _A	6.01 ^{bA}	5.61 ^{bA}	
S3	4.18 ^b _A	4.06 ^a _B	4.24 ^{ab} _A	9.25 ^a _A	8.83 ^{aA}	9.08 ^{aA}	4.29 ^{bA}	6.30 ^{bA}	
VC (%)	0.79			5.59			11.96		

^{a,b} Average followed by the same lowercase, at column, do not differ from each other by Tukey test at 5% probability (p<0.05);

^{A,B} Average followed by the same uppercase, at line, do not differ from each other by Tukey test at 5% probability (p<0.05); VC = variation coefficient

Table 4 shows the results of sensorial analyses of guavas at 0 and 5 days of storage. For attributes of flavour, texture, acidity and global evaluation, there were no significant differences between treatments. Sweetness and succulence parameters for stages S1 and S3 during storage presented significant differences relating to storage for S2. For the sweet attribute, it can be noticed that guavas presented the highest value for the fifth day of storage, which may be associated with the increase of total sugar contents with days of storage and the loss of water that enhance the concentration of these solutes.

Table 4: Sensorial analyses of guavas at different stages of maturation during modified atmosphere storage

Maturati on stage	Storage days											
	Taste		Texture		Acidity		Sweetness		Succulenc e		Global Evaluation	
	0	5	0	5	0	5	0	5	0	5	0	5
S1	6.25 _{aA}	7.00 _{aA}	6.08 _{aA}	7.50 _{aA}	6.08 _{aA}	6.67 _{aA}	5.33 _{bB}	7.17 _{aA}	5.58 _{bB}	7.25 _{aA}	6.00 _{aA}	7.08 _{aA}
Guava	7.25 _{aA}	7.33 _{aA}	7.50 _{aA}	7.17 _{aA}	6.83 _{aA}	6.67 _{aA}	7.00 _{aA}	7.00 _{aA}	7.67 _{aA}	7.42 _{aA}	7.58 _{aA}	7.17 _{aA}
S3	6.58 _{aA}	6.17 _{aA}	7.08 _{aA}	6.15 _{aA}	6.83 _{aA}	6.08 _{aA}	7.17 _{aA}	5.83 _{aB}	7.42 _{aA}	6.17 _{aB}	6.92 _{aA}	6.25 _{aA}
VC (%)	22.71		24.72		21.71		22.72		20.55		21.67	

^{a,b} Average followed by the same lowercase, at column, do not differ from each other by Tukey test at 5% probability (p<0.05);

^{A,B} Average followed by the same uppercase, at line, do not differ from each other by Tukey test at 5% probability (p<0.05); VC = variation coefficient

For guava, and as for the majority of fruits, texture is intimately related to cellular structure and pectic composition, being possible to change according to the process intensity and the maturation degree of the fruit (Torreggiani 2001), however, at the presented paper, this was not observed. All fruits presented high values for global acceptance, with evaluations that include moderately enjoyed and slightly enjoyed. Fruits have not submitted incidence of mould or musty spots during storage time.

CONCLUSIONS

The storage of guavas at modified atmosphere under refrigeration is as an alternative for better fruit conservation, preserving its sensorial attributes. However, even with short period of storage, one could see biochemical transformations, as peel's colourful variations, total soluble solids and pH.

BIBLIOGRAPHY

- Abularach MLS, Rocha CE, Felício PE. 1998. Características de qualidade do contrafilé (Longissimusdorsi) de touros jovens da raça Nelore. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 18(2): 205-210.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. 1997. *Official Methods of Analysis*; Edited by Sidney Williams. 16 ed. Arlington, 1997. 1141p.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. 2000. *Official Methods of Analysis*. Washington: AOAC, pag 1018.
- Arruda MC, Jacomino AP, Trevisan MJ, Jeronimo EM, Moretti CL. 2011. Atmosfera modificada em laranja 'Pêra' minimamente processada. *Tecnologia Pós-colheita*, 70: 664-671.
- Azzolini M, Jacomino AP, Bron IU. 2004. Índices para avaliar qualidade pós-colheita de goiabas em diferentes estádios de maturação. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 39(2):139-145.
- Botrel DA, Soares NFF, Camilloto GP, Fernandes RVB. 2010. Revestimento ativo de amido na conservação pós-colheita de pera Williams minimamente processada. *Ciência Rural*, 40(8):1814-1820.
- Chitarra MIF, Chitarra AB. 2005. Pós-colheita de frutos e hortaliças – Fisiologia e Manuseio. Minas Gerais:UFLA. pag 785.
- FAO. Food and Agriculture Organization. 2010. *Tropical Fruits*. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/006/y5143e/y5143e1a.htm>>. Acesso em 03 de novembro de 2014.
- Flores, G., Wu, S. -B., Negrin, A., & Kennely, E. J. 2015. Chemical composition and antioxidant activity of seven cultivars of guava (*Psidium guajava*) fruits. *Food Chemistry*, 170:327-35.

FREITAS GA. 2010. Produção e área colhida de goiaba no Nordeste. Informe Rural Etene. N°24. Disponível em: <http://www.bnb.gov.br/content/aplicacao/etene/etene/docs/ire_ano4_n24.pdf>. Acesso em: 30 de outubro de 2014.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. 2011. Produção Agrícola Municipal: Culturas temporárias e permanentes 2011. Rio de Janeiro. 38:1-97.

Maciel MIS, Silva WS, Souza KA, Melo EA, Lima VLAG, Pedrosa EMR. 2008. Modificações pós-colheita em frutos de 16 genótipos de aceroleira armazenados sob refrigeração. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, 3(2):157-163.

MAPA. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2010. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>>. Acesso em 03 de novembro de 2014.

Nora CD, Muller CDal-Ri, Bona GS, Rios AO, Hertz PF, Andre J, Jong EV, Flores SH. 2014. Effect of processing on the stability of bioactive compounds from red guava (*Psidium cattleianum* Sabine) and guabiju (*Myrcianthes pungens*). Journal of Food Composition and Analysis, 34:18–25.

Osorio C, Forero DP, Carriazo JG. 2011. Characterization and performance assessment of guava (*Psidium guajava* L.) microencapsulates obtained by spray-drying. Food Research International, 44:1174-1181.

Patil V, Chauhan AK, Singh RP. 2014. Optimization of the spray-drying process for developing guava powder using response surface methodology. Powder Technology, 253:230–236.

Sdiri S, Navarro P, Monterde A, Benabda J and Salvador A. 2012. Effect of postharvest degreening followed by a cold-quarantine treatment on vitamin C, phenolic compounds and antioxidant activity of early-season citrus fruit. Postharvest Biol and Technol. 65: 13–21.

Selcuk N, Erkan M. 2015. The effects of modified and palliflex controlled atmosphere storage on postharvest quality and composition of 'Istanbul' medlar fruit. Postharvest Biology and Technology, 99:9–19.

Singh, R., Giri, S.K., Kotwaliwale, N. 2014. Shelf-life enhancement of green bell pepper (*Capsicum annum* L.) under active modified atmosphere storage. Food Packaging and Shelf Life, 1:101–112.

Siqueira AMA, Santos SML, Lima BS, Rodrigues M, Afonso A, Costa JMC. 2014. Vida útil pós-colheita de goiaba cv. 'Paluma' submetida ao resfriamento rápido por ar forçado. Revista Ciência Agrônômica, 45:45-51.

Toinvonen, P M A, Brummell, D A. 2008. Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetable. Postharvest Biology and Technology. 48: 1-14.

Torreggiani D, Bertolo G, 2001. Osmotic pre-treatments in fruit processing: chemical, physical and structural effects. Journal of Food Engineering, 49: 247-253.

Xing Y, Li X, Xu Q, Jiang Y, Yun J, Li W, 2010. Effects of chitosan-based coating and modified atmosphere packaging (MAP) on browning and shelf life of fresh-cut lotus root (*Nelumbo nucifera* Gaerth). Innovative Food Science and Emerging Technologies 11: 684–689

Zambrano-Zaragoza ML, Mercado-Silva E, Ramirez-Zamorano P, Cornejo-Villegas MA, Gutiérrez-Cortez E, Quintanar-Guerrero D, 2013. Use of solid lipid nanoparticles (SLNs) in edible coatings to increase guava (*Psidium guajava* L.) shelf-life. Food Research International, 51: 946–953.

ACKNOWLEDGEMENT

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

FAPEAM – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas.

COMPARATIVE STUDY OF THE FATTY ACID PROFILE OF COTTONSEED AND CANOLA OIL

Souza C.C.¹, Silva L.E.², Matias, S.M.G.¹, Madruga M.S.¹, Silva, S.M.¹, Santos, C.A.C.²

1: Post-graduation Program in Science and Food Technology, Technology Center, Federal University of Paraíba – (PPGCTA/CT/UFPB), Campus I, 58051-900, João Pessoa, Paraíba, Brazil.

2: Post-Graduate Program in Mechanical Engineering, Technology Center, Federal University of Paraíba – (PPGEM /CT /UFPB).

cassiarapb@yahoo.com.br

Resumen: La creciente toma de conciencia de la población acerca de la calidad de los alimentos, además de los beneficios para la salud derivados del uso de aceites ricos en ácidos grasos mono y poliinsaturados ha llevado a las personas a diversificar su dieta, especialmente con el aumento del consumo de aceites vegetales y la reducción del consumo de animales grasas. El objetivo de este estudio fue evaluar el perfil de ácidos grasos de los aceites de canola y semilla de algodón que se venden en la ciudad de João Pessoa-PB. El análisis se realizó por cromatografía de gases (Varian 430GC) acoplado al detector de ionización de llama (FID). Los ésteres de metilo se prepararon de acuerdo a la metodología descrita por Hartman y Lago (1973) y su identificación se realizó por comparación con los patrones analíticos. El perfil de ácidos grasos presentes en el aceite de semilla de algodón consistía en 6 ácidos grasos saturados (SFA),

6 monoinsaturados (MUFA) y 5 poliinsaturados (PUFA). El aceite de canola mostró un patrón diferente con 14 ácidos grasos, de los cuales 5 fueron saturados, 5 monoinsaturados y 4 poliinsaturados, resultando en altos niveles de ácidos grasos monoinsaturados (69,11%) y PUFA (22,69%).

Palabras clave: aceites, cromatografía de gases, de aplicación industrial.

Abstract: The growing awareness of the population about the quality of foods, in addition to the health benefits from the use of oils rich in mono and polyunsaturated fatty acids has led individuals to diversify their diet, especially with increased consumption of vegetable oils and reduced consumption of animal fats. The aim of this study was to evaluate the fatty acid profile of oils from canola and cottonseed sold in the city of João Pessoa-PB. The analysis was performed by gas chromatography (Varian 430GC) coupled to flame ionization detector (FID). Methyl esters were prepared according to methodology described by Hartman & Lago (1973) and their identification was performed by comparison to analytical standards and quantification by %area. The fatty acid profile present in cottonseed oil consisted of 17 fatty acids, 6 saturated fatty acids (SFA), 6 monounsaturated fatty acids (MUFA) and 5 polyunsaturated fatty acids (PUFA). PUFAs were predominant (56.61%), with emphasis to linoleic acid C18:2n6c (55.84%). Canola oil showed a different pattern with 14 fatty acids, of which 5 were saturated, 5 monounsaturated and 4 polyunsaturated, resulting in high levels of MUFA (69.11%) and PUFA (22.69%). Oleic acid (65.16%), linoleic acid (20.25%) and palmitic acid (5.12%) showed the highest frequency.

Keywords: oils, gas chromatography, industrial application.

INTRODUCTION

In aspects related to vegetable oil production, Brazil has over 150 million hectares of land between new frontiers and range lands that can be incorporated into the agricultural production. The country has edaphoclimatic diversity in its entire length, and that ensures the cultivation and production of several crops, such as soybean, babassu, peanut, sunflower, crambe, palm, jatropha, canola, among others. It should be emphasized that these crops may also be explored for the purpose of biodiesel fuel production (Costa, 2004).

Refined vegetable oils are widely used in the food industry as ingredients or components in many processed food products in the form of oil blends. Some of these oils are sold individually as commodities whereas others, such as palm oil, although not sold in retail, are essential ingredients in many processed food products such as pastries, butter, margarines and cookies. Refined oil blends are more often used by manufactures as the food industry is interested in the variations in physical parameters of foods and in creating different textures (Osorio *et al.* 2014).

Chemically, oils and fats consist of triglyceride molecules (TG), which are formed from three molecules of fatty acids (FA) long chain esters linked as a glycerol molecule (Geris *et al.* 2007). The distribution of fatty acids in vegetable oils varies considerably. The most common fatty acids are those with 12, 14, 16 or 18 carbon atoms in the chain (Lopez *et al.* 2005).

Oils are important sources of energy (Kouba *et al.* 2008) and essential fatty acids, which are not produced by the body, need

to be acquired from the diet. Physiologically, act as vehicles for lipid soluble vitamins (A, D, E and K), comprising cell membranes, is stored under the form of adipose tissue, thermally insulating and protecting the body's internal organs, in addition to participating in the composition of sex hormones. Technologically, contribute to improve the palatability of foods, and can be used as emulsifiers, texturizers, flavors, humectants and transmitting heat to high temperature (Batista, 2013).

The cotton (*Gossypium hirsutum* L.) is one of the most important crops grown in Brazil and around the world, presenting as great source of fiber for the textile industry and oil for the food industry, among other products, generating employment and income over of its supply chain (Kilson, 2005). The world's largest producer of cotton is China. Brazil ranks 5th, however features the highest yield that is 1.515kg / ha (USDA, 2014). After refining, one can obtain an edible oil used in flavor and excellent nutritional quality frying. The cotton seed oil is rich in vitamin E, a natural antioxidant, which gives it greater "shelf-life", showing better condition, with less likelihood of suffering less rancidity and change the oils and corn soybean (Putti *et al.* 2012).

Canola (Canadian Oil Low Acid), seeds were obtained by genetic modification of the species *Brassica napus* and *Brassica rapa (campestris)*. The stability of canola oil is limited mainly by the presence of linolenic acid, chlorophyll and its decomposition products and other components such as minor amounts of fatty acids with more than three pairs (Przybylski *et al.* 2005).

Edible oils are mainly composed of triacylglycerols, and the oxidation of lipids is an undesirable chemical change that may impact the flavour, aroma, and nutritional quality of the oils with significant effects on human health and the original product. The heating oil is the cause of the cis-trans isomerization and the

presence of substantial amounts of isolated trans-fatty acids has been linked to arteriosclerosis and heart disease (Le Dréau, *et al.*, 2009).

The lipid degradation can have its associated with improper packaging oilseed oils and their derivatives during the production, processing and storage origin, involving complex chemical reactions between atmospheric oxygen and the constituents of food lipids unsaturated AG. As a result of such degradation, undesirable color changes occur, flavor, odor and consistency thereof plus depreciation of the product, loss of commercial value and decreased nutritive value, caused by the oxidation of proteins and vitamins by the action of peroxides formed. These changes undermine the integrity and safety of foods, which can cause harm to human health, due to the formation of polymeric compounds potentially toxic (Schaich 2012, Silva & Jorge 2012, Zhang *et al.* 2010).

Studies on the distribution of fatty acids from oilseeds have been induced by economic and taxonomic interest (Ajayi *et al.* 2007, Yadav *et al.* 2011), because besides them should overcome large slice of the food industry, many species produce oils that can be used in wide range of pharmaceutical and chemical industry, mainly as a biofuel replacing oil (Carlsson 2009, Azam *et al.* 2005).

According to Cheikh-Rouhou *et al.* (2007), the availability of data on lipid fraction as well as the thermo-oxidative stability of this fraction would facilitate the estimation of shelf life and determining the quality of the oil. The use of vegetable oils for various purposes has led to the need to better assess their quality and their degree of resistance, particularly their storage stability and thermal processes can cause loss of nutritional value and functional (Reda & Carneiro 2007).

Gas chromatography analysis of the following fatty acids provides advantages: Some fatty acids are indicative of the type of oil and a few have discriminative power; can help in the identification of oil admixtures; routine analysis (Osorio *et al.* 2014). Therefore, the aim of this study was to evaluate the fatty acid profile of oils from canola and cottonseed sold in the city of João Pessoa-PB.

MATERIALS AND METHODS

Materials

To develop this article, vegetable oils cottonseed and canola Flower Cotton and Liza trademark purchased in the local market and used without further treatment.

Analysis of fatty acid profiles

The transesterification method Hartman and Lago (1973) was used in all samples for analysis of oils of fatty acids. The identification of methyl esters was carried out in the gas chromatograph (Varian 430-GC) equipped with flame ionization detector (FID) and fused silica capillary column (Varian CP WAX 52 CB; 60 mm × 0.25 mm, 0.25 µm film thickness).

The parameters used for the chromatographic analysis of the fatty acid profile of the oils after selecting conditions for better separation of the peaks: injector temperature 250°C and 260°C detector. The column temperature was programmed at 60 °C for 4 minutes followed by a ramp of 2.5°C min⁻¹ to 240°C until it remained for 30 minutes. The total analysis time was 102 minutes. The injection volumes were 1.0 µl of samples and

dividing (Split) was 1:200. The chromatograms were recorded on *Galaxie Chromatografy Data System* software. The identification of methyl esters of fatty acids were carried out by comparing the retention time of methyl esters of samples with the patterns of the methyl esters (Supelco C4-24-18919-1AMP Mix) fatty acids. The results of the fatty acids were quantified by area normalization of the methyl and expressed in area percentage (%) esters.

RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 and **Figures 1-2** present the results for the fatty oils of cottonseed and canola surveyed acid profile. The profile of fatty acids present in cottonseed oil consisted of 17 fatty acids, 6 saturated fatty acids (SFA), 6 monounsaturated (MUFA) and 5 polyunsaturated fatty acids (PUFA). The polyunsaturated fatty acids were predominant (56.61%) highlighting the linoleic C18:2n6c (55.84%). SFA accounted for 26.35% and the highest frequency was the C16:0 (22.80%) followed by 17.01% from MUFA (**Figure 1**). The canola oil (**Figure 2**) showed a different pattern, 14, of which 5 were saturated 5 monounsaturated and 4 polyunsaturated fatty acids and resulting in high levels of MUFA (69.11%) and PUFA (22,69%) were detected. The majority were oleic acid (65.16%), linoleic acid (20.25%) and palmitic (5.12%).

Table 1: Fatty acid content of edible vegetable oils expressed in area%.

Fatty acid (% area)	Oils	
	Cottonseed	Canola
C12:0	0,52	-
C14:0	0,75	0,35
C14:1n5c	0,02	-
C15:0	0,04	0,07
C15:1n5c	0,02	-
C16:0	22,80	5,12
C16:1n7	0,50	0,27
C17:0	-	0,04
C17:1n7c	-	0,17
C18:0	2,16	2,62
C18:1n9c	13,85	65,16
C18:1n11	0,39	3,28
C18:2n6c	55,84	20,25
C18:2n6t	0,53	-
C18:3n3	0,03	0,91
C18:3n6	0,05	1,11
C20:0	-	-
C20:1n9	-	-
C20:4n6c	0,16	0,42
C23:0	0,08	-
C24:1n9	2,23	0,23
Σ SFA	26,35	8,20
Σ MUFA	17,01	69,11
Σ PUFA	56,61	22,69
PUFA/SFA	2,13	2,77
MUFA/SFA	0,65	8,43

The cotton oil with higher contents of palmitic acid (22.80%), linoleic (56.37%) and SFA (26.35%) and lower content of stearic (2.16%), oleic (14.24%), MUFA (17.01%) and PUFA (56.61%) compared to the fatty acid profile of soybean oil reported by Juárez *et al.* (2011) found that for the C16:0 (10.3%), C18:0 (4.9%), C18:1 (21.5%), C18:2 (53.4%), SFA (16.4%), MUFA (23%) and PUFAs (60.6%). Canola oil has a divergent profile of unsaturated fatty acids, MUFA therefore predominate when compared to cottonseed oil of this study and other oilseeds are mainly PUFA as soybean (Galão *et al.* 2014), sunflower and corn. Jorge *et al.* (2005) reported on sunflower oil, 6.66% of C16:0, 4.32% of C18:0, 21.09% of C18:1n9 and 67.78% of C18:2n6 and corn oil 12% of C16:0, 2.90% of C18:0, 32.20% of C18:1n9 and 52.20% of C18:2n6.

Among the oils studied, the highest levels of MUFA were found in canola oil (69.11%). The cottonseed oil stood out by higher levels of PUFA (56.61%) and SFA (26.35%). The results for cottonseed oil are similar to surveys conducted by Corsini and Jorge (2008) and the revision described by Rizwanul Fattah *et al.* (2013), and canola oil similar to those observed by Zambiasi *et al.* (2007).

The rate of lipid oxidation depends on the degree of unsaturation of fatty acids, type of oxygen molecules, food matrix type such as oil-in-water (O/W) emulsion or bulk oil, and presence of pro-oxidative metal ions and amphiphilic minor compounds (Chaiyasit *et al.*, 2007).

Cardiovascular disease (CVD) is one of the leading major causes of morbidity and mortality worldwide. It may result from the interactions between multiple genetic and environmental factors including sedentary lifestyle and dietary habits. The quality of dietary oils and fats has been widely recognised to be

inextricably linked to the pathogenesis of CVD. Vegetable oil is one of the essential dietary components in daily food consumption. However, the benefits of vegetable oil can be deteriorated by repeated heating that leads to lipid oxidation (Ng *et al.* 2014).

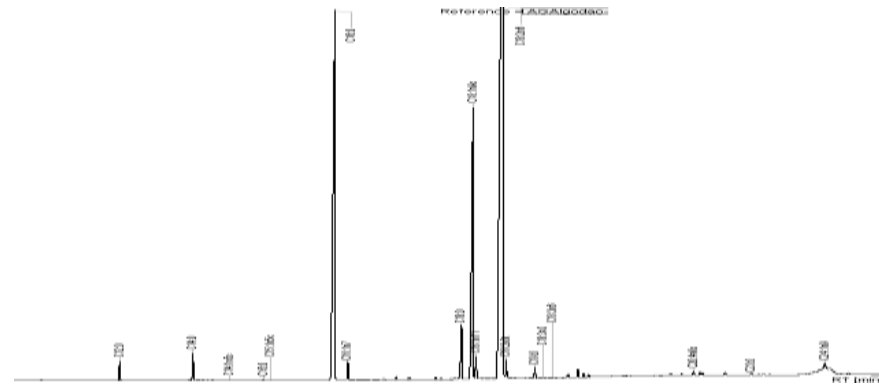


Figure 1: Chromatogram of the fatty acid profile of cottonseed oil

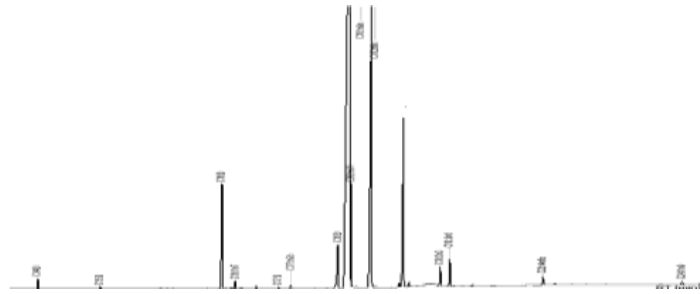


Figure 2: Chromatogram of the canola oil fatty acids profile

Dietary fatty acids are essential for normal growth, development and homeostasis, and they fulfill a number of important functions. Increasing evidence indicates that fatty acids and their derived substances may mediate critical cellular events, including gene activation and expression and the regulation of cell signaling (Calder, 2013). Cell membranes are composed of thousands of different lipid molecules that interact dynamically to form the transient or stable structures that may be used by many proteins as platforms for their activity and to enhance their interactions with other proteins. Lipids are a large and diverse group of naturally occurring organic compounds that share common physical properties, such as their solubility in non-polar organic solvents and general insolubility in water. In terms of membrane composition, lipids can be classified into different groups: glycerolipids, sphingolipids and terpene derived lipids (e.g., sterols). Fatty acids may contribute to complex lipids, although they can be also found as free entities in the membrane. In addition, fatty acids are ubiquitously present in animal fats, vegetable oils or waxes (Ibarguren *et al.* 2014).

In recent years, dietary recommendations have been made to decrease the intake of saturated and trans-fatty acids due to their negative cardiovascular effects, while mono and polyunsaturated fatty acids are recommended for their cardio-protective benefits (Baum *et al.* 2012).

The amount and type of fatty acids consumed are directly involved in the etiology of various diseases, such as diabetes, cancer, neuromuscular disorders, visual dysfunction, cardiovascular disease, psychiatric disorders, immunity and inflammatory disease, kidney disease, liver disease and aging (Estadella *et al.* 2013).

In the last decade we have witnessed an extraordinary increase in the number of functional foods targeted to the ever-growing health conscious population. Several categories among these foods can be found according to their health target, including the cardiovascular system. These foods, when they are consumed regularly and in the context of a healthy diet and lifestyle, intend to maintain or improve the CV health by reducing the levels of risk factors such as cholesterol. As intakes of saturated fat in many countries are higher than the recommended levels an increase in the intake of oleic acid may be beneficial as it limits the intake of saturated fat. This can be achieved by changing dietary patterns like using olive oil instead of butter, or by using food technology to modify the fatty acid profile of foods naturally rich in saturated fatty acids in favour of oleic acid (Lopes-Huertas 2010).

Therefore, the determination of the fatty acid profile of edible oils contributes significantly to the knowledge of the chemical properties, evaluation of oxidative stability, and particularly the implications they can have on the health of consumers of these products causing correct nutritional and industrial use.

CONCLUSIONS

In relation to the lipid profile, it was concluded that all samples have high levels of polyunsaturated fatty acids, especially omega 6; canola oil shows MUFA/SFA ratio of 8.43 and cottonseed oil showed the lowest PUFA/SFA (2.13) and MUFA/SFA (0.65) ratios, suggesting greater oxidative stability for biodiesel production compared to canola oil.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors gratefully acknowledge the PPGCTA and UFPB.

FATTY ACID PROFILE OF SOYBEAN, CORN AND SUNFLOWER OILS

Souza C.C.¹, Silva L.E.², Matias, S.M.G.¹, Madruga M.S.¹, Silva, S.M.¹, Santos, C.A.C.²

1: Post-graduation Program in Science and Food Technology, Technology Center, Federal University of Paraiba – (PPGCTA /CT /UFPB), Campus I, 58051-900, João Pessoa, Paraiba, Brazil.

2: Post-Graduate Program in Mechanical Engineering, Technology Center, Federal University of Paraiba – (PPGEM /CT /UFPB)

cassiarapb@yahoo.com.br

Resumen: La diferencia en la proporción de ácidos grasos presentes en muestras de aceites vegetales y sus derivados, influye directamente en su resistencia a procesos de degradación, lo que requiere investigar sus componentes para evaluar su calidad nutricional y tecnológica. El objetivo de este estudio fue identificar la composición en ácidos grasos de los aceites de soja, maíz y girasol comercializados en la ciudad de João Pessoa-PB. El análisis se realizó por cromatografía de gases acoplada a detector de ionización de llama (FID). Los ésteres de metilo se prepararon de acuerdo a la metodología descrita por Hartman y Lago (1973) y su identificación se realizó por comparación con patrones analíticos y cuantificación por % de área. El aceite de maíz mostró 14,98% SFA, 37,34% de MUFA y 47,69% de PUFA, con un total de ácidos grasos 12 detectados. Doce ácidos grasos fueron identificados en aceite de soja y 14 en aceite de girasol, 17,38% y 9,32% fueron ácidos grasos saturados

(SFA), 26,56% y 34,88% fueron monoinsaturados (MUFA) mientras que un 56,99% y 55,76% de ácidos grasos fueron poliinsaturados (PUFA), respectivamente. En todas las muestras, los ácidos grasos principales fueron: palmítico, esteárico, ácido graso oleico y linoleico, y linoleico (C18: 2n6c) fue el más abundante.

Palabras clave: aceites, ácidos grasos, calidad

Abstract: The difference in the proportion of fatty acids present in samples of vegetable oils and their derivatives, directly influences their resistance to degradative processes, which requires investigation of their constituents to evaluate their nutritional and technological quality. The aim of this study was to identify the composition of fatty acids of soybean, corn and sunflower oils marketed in the city of João Pessoa-PB. The analysis was performed by gas chromatography coupled to flame ionization detector (FID). Methyl esters were prepared according to methodology described by Hartman and Lago (1973) and their identification was performed by comparison to analytical standards and quantification by % area. Corn oil showed 14.98% SFA, 37.34% MUFA and 47.69% PUFA, totaling 12 fatty acids detected. Twelve acids were identified in soybean oil and 14 in sunflower oil, 17.38% and 9.32% of saturated fatty acids (SFA), 26.56% and 34.88% of monounsaturated (MUFA) and 56.99% and 55.76% of polyunsaturated fatty acids (PUFA), respectively. In all samples, major fatty acids were: palmitic, stearic, oleic and linoleic, and linoleic fatty acid (C18: 2n6c) was the most abundant.

Keywords: oils, fatty acids, quality.

INTRODUCTION

Lipids are a heterogeneous group of substances widely distributed in animals and plants that play important roles in human biology. Polyunsaturated fatty acids (PUFAs) that contain 2 double bonds, and cannot be biosynthesized by the human body are called essential fatty acids (EFAs), and their dietary intake is essential for homeostasis (Comba *et al.* 2011).

Fatty acids, are an important source of energy and an essential component of cell membranes. They also function as signal transduction molecules in a variety of biological phenomena. Recently, an increasingly large number of physiological and pharmacological studies on fatty acids have revealed that the functional properties of fatty acids are modulated by the amount of individual fatty acid intake and the distribution of fatty acids among organs (Tokuyama and Nakamoto 2014).

Diet is one factor that plays a part in coronary heart disease risk through multiple biological mechanisms including subclinical inflammation (Santos *et al.* 2013). In the last 50 years many epidemiological evidences have accumulated regarding the role of ω -3 PUFAs, namely α -linolenic acid (ALA), eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA), in the prevention and management of cardiovascular disease (De Caterina, 2011). Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFAs) have received growing attention due to their significant roles in human health (Gong *et al.* 2014). Omega-3 fatty acids are also implicated in the prevention of coronary artery disease, hypertension, diabetes, arthritis, other inflammatory and autoimmune disorders and cancer (Tur *et al.*, 2012).

The quality and potential uses of vegetable oils are determined by their fatty acid composition. Sunflower oil is one of the most widely used vegetable oils because of its nutritional and industrial attributes. Sunflower oil quality is often considered in terms of oleic acid content, as this is nowadays the preferred fatty acid for both edible purposes and biodiesel production (Marvey, 2008). Environmental factors have a decisive influence on sunflower oil quality (Roche *et al.* 2006, Izquierdo *et al.* 2009). Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) is the most important oil seed of worldwide interest (Cheng *et al.* 2008, EMBRAPA 2011, Lee *et al.* 2008) and Brazil has become one of its largest producers (Berman *et al.* 2010). The oil which is derived from it possesses a fundamental role in the diet of many South American people.

Corn oil has a high nutritional value and desirable sensory properties as a mild nutty flavor. In spite of high unsaturation, the oil has good oxidative stability due to high levels of unsaponifiable compounds including phytosterols and tocopherols. The refined corn oil is used for frying, salad oil and partially hydrogenated in the production of margarines (Gunstone 2005, Moreau 2005).

The intensity of the changes to lipids depends on their physicochemical properties, particularly the degree of unsaturation of fatty acids and the presence of factors promoting oxidation, *e.g.* exposure to oxygen and light, presence of metallic ions or high temperatures (Achir *et al.*, 2006).

The large size of Brazil and the appropriate types of climate that favors the planting of oilseeds, characterize it as a country with great potential for the exploitation of biomass for food, chemical and energy uses. This diversity of oilseed oils arrays with different chemical compositions are extracted. This fact encourages more specific studies of physico-chemical

characterization and thermal and oxidative behavior of oil used and the biodiesel produced (Santos, 2008). The aim of this study was to identify the composition of fatty acids of soybean, corn and sunflower oils marketed in the city of João Pessoa-PB.

MATERIALS AND METHODS

Materials

To develop this article, vegetable oils corn, soybean, canola and sunflower and cotton Liza trademark brand cotton flower purchased in the local market and used without further treatment were used.

Analysis of fatty acid profiles

The transesterification method Hartman and Lago (1973) was used in all samples for analysis of oils of fatty acids. The identification of methyl esters was carried out in the gas chromatograph (Varian 430-GC) equipped with flame ionization detector (FID) and fused silica capillary column (Varian CP WAX 52 CB; 60 mm × 0.25 mm, 0.25 µm film thickness).

The parameters used for the chromatographic analysis of the fatty acid profile of the oils after selecting conditions for better separation of the peaks : injector temperature 250°C and 260°C detector. The column temperature was programmed at 60 °C for 4 minutes followed by a ramp of 2.5°C min⁻¹ to 240°C until it remained for 30 minutes. The total analysis time was 102 minutes. The injection volumes were 1.0 ul of samples and dividing (Split) was 1:200. The chromatograms were recorded on *Galaxie Chromatografy Data System* software. The identification

of methyl esters of fatty acids were carried out by comparing the retention time of methyl esters of samples with the patterns of the methyl esters (Supelco C4-24-18919-1AMP Mix) fatty acids. The results of the fatty acids were quantified by area normalization of the methyl and expressed in area percentage (%) esters.

RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 and **Figures 1-3** present the results for the fatty oils of sunflower, corn and soybean surveyed acid profile. 12 AG were identified in soybean oil and sunflower at 14, being 17.38% and 9.32% of saturated fatty acids (SFA), 26.56% and 34.88% monounsaturated (MUFA) and 55.99 % and 55.76% of polyunsaturated (PUFA) respectively. Corn oil showed 14.98% of SFA, MUFA and 37.34% to 47.69% PUFA total of 12 fatty acids detected.

Among the oils studied, the highest levels of MUFA were found in corn oil (37.34%) followed by sunflower (34.88%) and total PUFA, highlights are soy and sunflower. The results for sunflower oils, corn and soybeans are similar to studies by Esteban *et al.* (2012). The major fatty acids in all samples were: palmitic, stearic, oleic and linoleic, which are in agreement with results reported by Mohammad Fauzi and Saidina Amin (2013) stating that these fatty acids together with linolenic (C18:3) are the most common fatty acids in vegetable oils.

Ai *et al.* (2014) found that the content of major acids to sunflower oil was represented by oleic acid (25.29%) and linoleic acid

(60.03%) and corn oil, 50.72% was determined by the total PUFA followed by 32.98% monounsaturated fatty acids 16.30% and total saturated. Oleic acid in the human diet was shown to decrease low-density lipoprotein (LDL) levels in blood, suppress tumorigenesis, ameliorate inflammatory diseases and decrease blood pressure (Hostmark and Haug 2013, Lopez-Huertas 2010). Soybean seed oil generally consists of five major fatty acids, palmitic (12%), stearic (4%), oleic (24%), linoleic (52%) and α -linolenic (8%) acids (Dhakal *et al.* 2014). The majority of soybean cultivars present around 15–20% of lipidic fraction, and this value is influenced by climate conditions, geographical localization, soil and selected agronomic procedures (Kumar *et al.* 2006, Souza *et al.* 2009).

A total of eleven fatty acids were detected and quantified, among them the most expressive ones were oleic, linoleic, linolenic and palmitic acids. The total unsaturated fatty acid amount was higher than 82%. An increase in the ω -3 fatty acids quantities were observed in transgenic species, which can be reflected in lower ω 6/ ω -3 ratios, a highly desired trend regarding consumers health. In conclusion, results showed a large amount of variation among the different germplasms (either conventional or transgenic) within and across locations (Galão *et al.* 2014).

The Academy recommends a food based approach through a diet that includes regular consumption of fatty fish, nuts and seeds, lean meats and poultry, low-fat dairy products, vegetables, fruits, whole grains, and legumes. These recommendations are made within the context of rapidly evolving science delineating the influence of dietary fat and specific fatty acids on human

health. In addition to fat as a valuable and calorically dense macronutrient with a central role in supplying essential nutrition and supporting healthy body weight, evidence on individual fatty acids and fatty acid groups is emerging as a key factor in nutrition and health. Small variations in the structure of fatty acids within broader categories of fatty acids, such as polyunsaturated and saturated, appear to elicit different physiological functions (Academy of Nutrition and Dietetics 2014). Epidemiologic data have shown that fatty acids profile in food has a direct impact on human health (López-Huertas 2009). High saturated fat diets are well associated with obesity prevalence and the increased risk of cardiovascular disease, diabetes and cancer. Reducing saturated fats from the diet is recommended to eliminate Western diet-induced health problems. The common alternatives of animal (saturated) fats for humans are plant oil, including soybean oil, peanut oil and corn oil because of the high percentage of unsaturated fat acids (Si *et al.* 2014).

Aging is well-known as an inevitable process that is physiologically characterized as a progressive, generalized systematic dysfunction of almost or all organs, giving rise to the escalated vulnerability to environmental challenges and resulting in increased risks of disease and death. Indeed, aging is associated with a greatly increased metabolic and oxidative stress, elevated chronic, low-grade inflammation, and accumulated DNA mutations as well as increased levels of its DNA damages (Frisard and Ravussin 2006). Si *et al.* (2014) tested whether very high levels of corn oil (58.6% fat-derived calories, FDC) intake improve health and longevity of aging mice.

Fattyacids (% area)	Oils		
	Sunflower	Corn	Soybean
C12:0	-	-	-
C14:0	-	0,40	0,92
C14:1n5c	0,31	-	-
C15:0	-	-	-
C15:1n5c	0,07	-	-
C16:0	6,13	12,37	11,32
C16:1n7	0,10	0,15	0,64
C17:0	-	0,08	0,64
C17:1n7c	0,07	0,05	0,60
C18:0	3,16	2,13	4,50
C18:1n9c	33,00	36,07	22,17
C18:1n11	0,69	0,78	2,06
C18:2n6c	55,32	46,84	54,28
C18:2n6t	-	-	-
C18:3n3	0,28	0,55	0,95
C18:3n6	0,16	0,30	0,76
C20:0	0,03	-	-
C20:1n9	-	-	1,09
C20:4n6c	-	-	-
C23:0	-	-	-
C24:1n9	0,64	0,29	-
Σ AGS	9,32	14,98	17,38
Σ MUFA	34,88	37,34	26,56
Σ PUFA	55,76	47,69	55,99
PUFA/SFA	5,98	3,18	3,22
MUFA/SFA	3,74	2,49	1,53

Table 1: Fatty acid content of edible vegetable oils expressed in area (%).

It is estimated that the ratio ω -6/ ω -3 in the diet of people who lived in the period before industrialization, was around 1:1 to 2:1, due to heavy intake of vegetables and foods of marine origin containing ω -3 fatty acids. With industrialization, there was a progressive increase in this ratio, due primarily to the production of refined oils derived from oilseed species with high linoleic acid content and decreased intake of fruits and vegetables, resulting in diets with inadequate amounts of fatty acids ω -3. In recent decades has been determined in many countries, the average intake of fatty acids results in ω -6 / ω -3 relationships are between 10:1 to 20:1, occurring records of up to 50:1 (Simopoulos 2004).

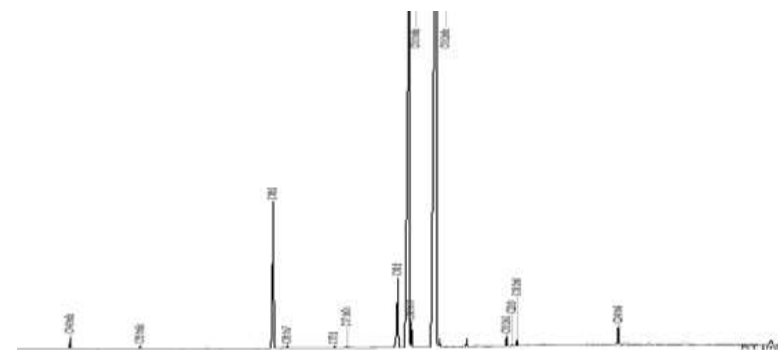


Figure 1: Chromatogram correspond to the profile of fatty acids of sunflower oil.

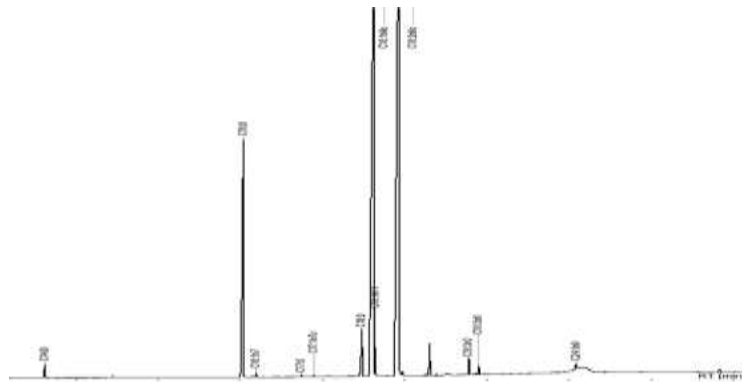


Figure 2: Chromatogram correspond to the profile of fatty acids of corn oil.

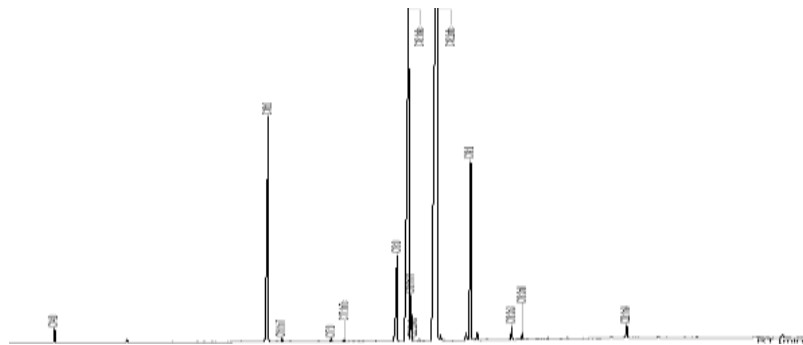


Figure 3: Chromatogram correspond to the profile of fatty acids of soybean oil.

Martin *et al.* (2006) find that the ratio ω -6/ ω -3 diet has a great influence on the production of PUFA ω -3 family, with high ratios result in decreased production of eicosapentaenoic acid (EPA) a condition which contributes to the development of allergic, inflammatory and cardiovascular diseases. Thus one must conduct studies to estimate the ratio ω -6/ ω -3 in the diet of the population.

Linoleic acid (LA) is the most highly consumed PUFA in the Western diet and is found in virtually all commonly consumed foods. LA is the metabolic precursor of arachidonic acid (ARA) and there is concern that LA consumption can enrich tissues with ARA and contribute to overproduction of bioactive eicosanoids, thereby increasing inflammatory markers and/or chronic disease risk. However, a 2011 review reported that decreasing dietary LA up to 90% did not significantly correlate with change in ARA tissue levels and, similarly, increasing dietary LA levels did not increase ARA levels substantially. A 2012 systematic review of randomized controlled trials that assessed the impact of LA on biologic markers of chronic inflammation among healthy adults also reported no evidence that LA increased inflammatory markers (Johnson and Fritsche 2012).

Oils and fats also provide consistency and characteristics specific to products containing the fusion, acting as a means of heat transfer during the frying process, contributing to the flavor, food palatability and satiety after eating. Some lipids are excellent emulsifying agents in food systems (Reda Carneiro 2007). In this sense, it is highlighted that the oils from soybean, corn and sunflower are intensively used in the diet of the population and changes in the lipid profile of these oils directly affect the health

of its consumers as well as processing and storage of oil and its derivatives.

Therefore, we highlight the importance of the characterization of the fatty acids in edible oils which cooperates with the investigation of the nutritional, technological capabilities as well as evaluating the degradation profile of these products.

CONCLUSIONS

Therefore, it was concluded that sunflower, corn and soybeans oils are excellent sources of omega 6, with PUFA:SFA ratio higher than 3, giving them nutritional quality. Considering the differences in the unsaturation degree between samples, soybean oil showed higher oxidative stability.

REFERENCES

- Academy of Nutrition and Dietetics: Dietary Fatty Acids for Healthy Adults. 2014. *J Acad Nutr Diet.*, 114:136-153.
- Achir N, Kara W, Chipeaux C, Trezzani I, Cuvelier M E. 2006. Effect of energy transfer conditions on the chemical degradation of frying oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108 (12): 999–1006.
- Ai F, Bin J, Zhang Z, Huang J, Wang J, Liang Y, Yu L, Yang Z. 2014. Application of random forests to select premium quality vegetable oils by their fatty acid composition. *Food Chemistry*, 143: 472-47.
- Berman, K. H., Harrigan, G. G., Riordan, S. G., Nemeth, M.A., Hanson, C., Smith, M., et al. (2010). Compositions of forage and seed from second-generation glyphosatetolerant soybean MON 89788 and insect-protected soybean MON 87701 from Brazil are equivalent to those of conventional soybean (*Glycine max*). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 58: 6270–6276.
- Bigger J. 2001. Polyunsaturated fatty acids and cardiovascular events: a fish tale. *Circulation*, 103: 623–625.
- Cheng, K. C., Beaulieu, J., Iquira, E., Belzile, F. J., Fortin, M. G. Strömvik, M. V. (2008). Effect of transgenes on global gene expression in soybean is within natural range of variation of conventional cultivars. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56: 3057–3067.
- Comba A, Lin Y-H, Eynard AR, Valentich MA, Fernandez-Zapico ME, Pasqualini ME. 2011. Basic aspects of tumor cell fatty acid-regulated signaling and transcription factors. *Cancer Metastasis Rev.*,30:325-342.

- De Caterina R. 2011. n-3 fatty acids in cardiovascular disease. *N Engl J Med.*, 364:2439 -2450.
- Dhakal K H, Jung K, Chae J, Grover Shannon J, Lee J. 2014. Variation of unsaturated fatty acids in soybean sprout of high oleic acid accessions *Food Chemistry*, 164:70-73.
- EMBRAPA (2011). Tecnologias de produção de soja: região central do Brasil 2012 e 2013. Londrina: Embrapa Soja, 261.
- Esteban B, Riba J-R, Baquero G, Rius A, Puig R. 2012. Temperature dependence of density and viscosity of vegetable oils *Biomass and bioenergy*, 42:164 -171.
- Frisard, M, Ravussin, E, 2006. Energy metabolism and oxidative stress: impact on the metabolic syndrome and the aging process. *Endocrine*, 29:27-32.
- Hartman, L., Lago, R.C.A., 1973. Rapid preparation of fatty acids methyl esters from lipids. *Lab. Pract.* 22: 475-476.
- Galão O F, Carrão-Panizzi MC, Mandarino JMG, Júnior, O O S, Maruyama SA, Figueiredo LC, Bonafe E G, Visentainer JV. 2014. Differences of fatty acid composition in Brazilian genetic and conventional soybeans (*Glycine max* (L.) Merrill) grown in different regions. *Food Research Internacional*, 62:589-594.
- Gong Y, Wan X, Jiang M, Hu C, Hu H, Huang F. 2014. Metabolic engineering of microorganisms to produce omega-3 very long-chain polyunsaturated fatty acids *Review Article Progress in Lipid Research*, 56:19-3.
- Gunstone, F D. Vegetable Oils. In: SHAHIDI, Fereidoon. *Bailey's Industrial Oil & Fat Products: Edible Oil & Fat Products Chemistry, Properties & Health Effects*. 6. ed. New Jersey: Wiley Interscience, 2005. v.1. Cap. 6, p. 213-268.
- Hostmark AT, Haug A. 2013.** Percentage oleic acid is inversely related to percentage arachidonic acid in total lipids of rat serum *Lipids in Health and Disease*, 12:40.
- Izquierdo N G, Aguirrezabal LAN, Andrade F H, Geroudet C, Valentinuz O, Iraola M P. 2009. Intercepted solar radiation affects oil fatty acid composition in crop species. *Field Crops Res.*, 114:66-74
- Johnson GH, Fritsche K. 2012. Effect of dietary linoleic acid on markers of inflammation in healthy persons: A systematic review of randomized controlled trials. *J Acad Nutr Diet.*,112:1029-1041.
- Kumar V, Rani A, Solanki S, Hussain SM. 2006. Influence of growing environment on the biochemical composition and physical characteristics of soybean seed. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 188-195.
- Lee, S. J., Ahn, J. K., Kim, S. H., Kim, J. T., Han, S. J., Jung, M. Y., et al. (2003). Variation in isoflavone of soybean cultivars with location and storage duration. *Journal of Agriculture and Food chemistry*, 51: 3382-3389.
- López-Huertas, E. 2010. Health effects of oleic acid and long chain omega-3 fatty acids (EPA and DHA) enriched milks. A review of intervention studies. *Pharmacological Research*, 61:200-207.
- López-Huertas, E. (2009). Health effects of oleic acid and long chain omega-3 fatty acids (EPA and DHA) enriched milks. A review of intervention studies. *Pharmacological Research*, 61:200-207.
- Martín, C. et al. 2006. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. *Rev. Nutr.*, 19(6):761-770.
- Marvey B B. 2008. Sunflower-based feedstocks in nonfood applications: perspectives from olefin metathesis. *Int. J. Mol. Sci.*, 9:1393-1406.

Mohammad Fauzi, AH; Saidina Amin, NA. 2013. Optimization of oleic acid esterification catalyzed by ionic liquid for green biodiesel synthesis. *Energy Convers Manage*, 76:818–27.

Moreau, R A. Corn Oil. In: SHAHIDI, Fereidoon. *Bailey's Industrial Oil & Fat Products: Edible Oil & Fat Products Chemistry, Properties & Health Effects*. 6. ed. New Jersey: Wiley Interscience, 2005. v.2. Cap. 4, p. 149-172.

Roche J, Bouniols A, Mouloungui Z, Barranco T, Cerny M. 2006. Management of environmental crop conditions to produce useful sunflower oil components. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 108: 287–297

Reda, S. Y.; Carneiro, P. I. B. 2007. Óleos e Gorduras: Aplicações e Implicações. *Revista Analytica*, n.27, p.60-67.

Santos S, Oliveira, A, Lopes C. 2013. Systematic review of saturated fatty acids on inflammation and circulating levels of adipokines. *Review Article Nutrition Research*, 33 (9): 687-695.

Santos, Joselene Ribeiro de Jesus. Biodiesel de babaçu: avaliação térmica, oxidativa e misturas binárias / Joselene Ribeiro de Jesus Santos. João Pessoa: UFPB, 2008. 103f.: il. Doctoral Thesis.

Tokuyama S, Nakamoto K. 2014. *Omega-3 Fatty Acids in Brain and Neurological Health*, Chapter 12 - Pain as Modified by Polyunsaturated Fatty Acids, Pages 131-146.

Tur J.A., Bibiloni M M, Sureda A, Pons A. 2012. Dietary sources of omega-3 fatty acids: Public health risks and benefits. *The British Journal of Nutrition*, 107: 23–52.

Si H, Zhang L, Liu S, LeRoith T, Virgous C. 2014. High corn oil dietary intake improves health and longevity of aging mice. *Experimental Gerontology*, 58:244-249.

Simopoulos AP. 2004. Omega-6/Omega-3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. *Food Rev Inter.*,20(1):77-90.

Souza L C F, Zanon G D, Pedroso F F, Andrade L H L. 2009. Teor

de proteína e de óleo nos grãos de soja em função do tratamento de sementes e aplicação de micronutrientes. *Ciência e Agrotecnologia*, 33: 1586–1593.

CARACTERIZACIÓN SENSORIAL DE FRUTA DE ANANÁ DESHIDRATADO POR DIFERENTES MÉTODOS

Trela V.D.¹, Fernández PR¹, Borsini, A.A.¹, Hough G.², Ramallo L.A.³

1: IMAM-CONICET-Universidad Nacional de Misiones, Argentina

2: ISETA, 9 de Julio, Buenos Aires, Argentina

3: Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales- UNaM, Argentina

valeriatrela@gmail.com

Resumen: El objetivo de este trabajo fue caracterizar, a través del análisis sensorial descriptivo cuantitativo, muestras de frutas de *Ananás Comosus* deshidratadas por diferentes métodos. Los métodos de deshidratación fueron: i) secado con flujo de aire caliente (SAC60°C) en condiciones constantes de velocidad y temperatura, ii) secado intermitente (SI) con periodos de 45 min de reposo y 45 min de SAC60°C, iii) secado combinado de SAC60°C y pulsos de microondas (MW+SAC60°C), y iv) deshidratación osmótica con solución de sacarosa a 50°Brix-40°C seguida de SAC60°C (DO+SAC60°C). Se efectuaron medidas instrumentales de las propiedades mecánicas y del color de dichas muestras. Se entrenó a un panel constituido por 13 evaluadores. Los descriptores seleccionados para caracterizar a la fruta fueron: color amarillo, color pardo, aroma a ananá fresco, sabor dulce, sabor a ananá fresco, cohesividad y dureza. Las muestras DO+SAC60°C presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en los descriptores color amarillo (mínimo), color pardo

(mínimo) y sabor dulce (máximo). En cuanto a los atributos cohesividad, aroma y sabor a ananá fresco no se observaron diferencias ($p > 0,05$) entre las muestras. Fruta secada con SAC60°C obtuvo valores significativamente más altos en el atributo dureza ($p < 0,05$) y los más bajos en aroma a ananá fresco. Pudo observarse una concordancia entre las mediciones instrumentales del color y las respuestas de los evaluadores. Se observaron mayores cambios de color en relación a la fruta fresca en las muestras con SI. Los resultados del análisis sensorial de dureza y cohesividad están en concordancia al parámetro elasticidad obtenido en ensayos instrumentales.

Palabras Clave: Análisis sensorial, ananá, secado

Abstract: The purpose of the present study was to characterize, through quantitative descriptive sensory analysis, samples of *Ananas comosus* fruit dehydrated by different methods. Dehydration methods were: i) drying with hot air flow (SAC60°C) under constant conditions of speed and temperature, ii) intermittent drying (SI) with periods of 45 min of rest and 45 min of SAC60°C, iii) combined drying SAC60°C and pulsed microwave (MW + SAC60°C), and iv) osmotic dehydration with sucrose solution followed SAC60 50°Brix-40°C (OD + SAC60°C). Instrumental measurements of the mechanical properties and color of the samples were made. The trained a panel consisting of 13 assessors. The descriptors selected to characterize the fruit were yellow, brown, fresh pineapple aroma, sweet taste, taste of fresh pineapple, cohesiveness and hardness. Samples + DO SAC60°C showed significant differences ($p < 0.05$) yellow (minimum), brown (minimum) color and sweet flavor (most) descriptors. In terms of cohesiveness, aroma and taste of fresh

pineapple attributes no differences ($p>0.05$) were observed between samples. Dried Fruit with SAC60°C scored significantly higher values in the attribute hardness ($p<0.05$) and the lowest in fresh pineapple aroma. It was observed a concordance between instrumental color measurements and responses from evaluators. More color change in relation to the fresh fruit samples with SI were observed. The results of sensory evaluation of hardness and cohesiveness are aligned to give instrumental parameter obtained in trials.

Keywords: sensory analysis, pineapple, drying

INTRODUCCIÓN

El ananá es una fruta tropical con características sensoriales (propiedades mecánicas, flavor, relación acidez/dulzura, color) y nutricionales (ácido ascórbico, minerales, fibras, antioxidantes, etc.) que hacen atractivo su consumo (Ramallo y Mascheroni 2012). Para prolongar la vida útil de alimentos de alta humedad, como es el ananá, es necesario secarlos para eliminar la mayor cantidad de agua y lograr un producto estable en el tiempo. Las frutas deshidratadas por métodos combinados tienen gran potencial de uso como ingredientes en barras de cereales, yogur, confitería, cereales para el desayuno y panadería. Además, el consumo de fruta deshidratada varía de país en país, y su demanda se ve favorecida por la tendencia actual de incorporación de minerales y fibras a la dieta diaria; así, son utilizados como sustitutos de alimentos ricos en grasas y azúcar (snacks). Sin embargo, se sabe que los procesos de secado pueden inducir numerosos cambios físico-químicos (cambios de color y textura, pérdida de nutrientes, etc.) en los tejidos vegetales, lo cual tiene un alto impacto en la calidad del producto (Bonazziy Dumoulin 2011).

El secado con aire caliente (SAC) es ampliamente usado para preservar alimentos de origen vegetal. Sin embargo, la exposición de los vegetales a temperaturas elevadas o periodos largos de secado provoca cambios estructurales indeseables y pérdida de las características organolépticas propias.

El uso de técnicas complementarias al secado tradicional permite preservar las características organolépticas y nutricionales de los alimentos (Torreggiani y Bertolo 2002). En el caso del proceso combinado de deshidratación osmótica y aire caliente (DO+SAC). Se pueden obtener productos con las características impartidas

por el deshidratado osmótico hasta valores de actividad acuosa que permitan su preservación a temperatura ambiente (Ertekin y Cakaloz 1996).

En el secado intermitente el calor es aplicado de manera discontinua con periodos o ciclos de reposo (Islam *et al.* 2003, Jumah *et al.* 2007), el mismo fue ampliamente investigado en diversos productos como arroz, banana, guayaba, papa, soja y trigo (Aquerreta *et al.* 2007, Chua *et al.* 2000, Nishiyama *et al.* 2006, Shei y Chen 2002; Thomkapanich *et al.* 2007, Tuyen *et al.* 2009).

La tecnología de microondas (MW) actúa gracias a un campo electromagnético que hace vibrar y friccionar las moléculas de agua que contienen los alimentos, produciéndose un calor interno que permite su calentamiento, secado o cocción. La combinación de MW+SAC tiene las ventajas de mayor velocidad de operación porque reduce el tiempo de secado, ahorro de energía, aumento de la calidad y la vida útil de los productos (Datta *et al.* 2001, Shiffman 1985, Díaz *et al.* 2003).

Se ha estudiado el efecto del SAC sobre la habilidad de rehidratación, contenido del ácido ascórbico, color y volumen, durante el secado de ananá (Ramallo y Mascheroni 2012). Yan *et al.* (2008) estudiaron los cambios de volumen, encogimiento y porosidad durante el secado de ananá, banana y mango. García *et al.* (2013) estudiaron la cinética de la DO (60°C durante 10 h) y por SAC (60°C durante 5 h) de ananá donde determinaron las propiedades físico-mecánicas de las frutas frescas y de los cubos deshidratadas (masa, firmeza, talla, pH, y contenido de sólidos solubles).

La evaluación sensorial, según la División de Evaluación Sensorial del Instituto de Tecnólogos de Alimentos (IFT) de Estados Unidos, se define como "la disciplina científica utilizada para

evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones a aquellas características de alimentos y otras sustancias que son percibidas por los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído" (Hough y Fiszman 2005).

Técnicas de evaluación sensorial han sido utilizadas para caracterizar numerosos alimentos: ricota (Hough *et al.* 1999). Coste *et al.* (2011) desarrollaron en forma preliminar 31 descriptores para la caracterización sensorial de ajos desecados a 50°C y liofilizados a -50°C, bajo vacío. Rodríguez y Qüesta (2009) utilizaron distintos tipos de pruebas: pruebas de preferencia en granos de choclo, análisis descriptivo cualitativo en granos de choclo mínimamente procesados y escalas hedónicas estructuradas para la valoración de vegetales (en espinacas y berenjenas). Da Silva Berilli *et al.* (2011) emplearon la técnica de aceptabilidad sensorial para evaluados cultivares nuevos de ananá, Vitória y EC-93, para su consumo en natural. Los atributos evaluados fueron aroma, sabor, impresión general, textura, aspecto del corte, apariencia de fruta entera, acidez y dulzor, y la intención de compra. Carbonell *et al.* (2007) desarrollaron una lista de descriptores para evaluarlos jugos de mandarinas frescas y procesadas, obteniendo 29 descriptores.

En particular el análisis descriptivo ha demostrado ser un medio eficaz para distinguir los distintos tipos de alimentos sobre la base del origen o fuente (Dariou y Siefferman 2002). El resultado del análisis descriptivo es la descripción sensorial total, teniendo en cuenta los aspectos visuales, auditivos, olfativos, gustativos y sensaciones cinestésicas que son percibidas cuando el producto es evaluado (Stone y Sidel 1993).

El objetivo de este trabajo fue caracterizar sensorialmente frutas de ananá deshidratada por diferentes métodos, aplicando la metodología del análisis descriptivo. Los resultados se

compararon con medidas instrumentales de las propiedades mecánicas y el color.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de las Muestras

Frutas de ananá *Comosus* variedad Cayena Lisa, en estado de madurez comercial ($11,52 \pm 1,38$ °Brix), se obtuvieron de comercios de la ciudad de Posadas, Misiones.

La fruta fue lavada con agua, pelada manualmente con cuchillo de acero inoxidable y luego seccionada en medias rodajas de $0,60 \pm 0,05$ cm de espesor, se quitó el centro con un sacabocados. Luego del proceso de secado, las muestras fueron almacenadas a temperatura de $8 \pm 1^\circ\text{C}$ hasta el análisis sensorial, por un período inferior a 10 días.

Secado con flujo de aire caliente (SAC60°C): se utilizó un secadero de flujo paralelo a temperatura (60°C) y velocidad de aire (1,1 m/s) constantes (modelo Si343, Dalvo, Argentina) durante aproximadamente 5 h.

Secado intermitente o con pulsos de aire caliente (SI): de forma iterativa se aplicó aire caliente (60°C y 1,1 m/s) por 45 min + 45 min de reposo, durante 9 h aproximadamente hasta llegar a la humedad requerida. Durante los periodos de reposo las muestras se mantuvieron en un recipiente cerrado de poliestireno expandido de 1 cm de espesor de pared, para minimizar las variaciones de temperatura en el sólido.

Deshidratación osmótica seguida de secado con aire caliente (DO+SAC60°C): se colocó la fruta en vasos de precipitado conteniendo solución de sacarosa a 50°Brix, en relación volumen solución/masa de fruta >10/1. El proceso se llevó a cabo con

agitación y temperatura constante (40°C), en un baño termostático con movimiento alternativo, regulado en 60 o.p.m (Dubnoff, Vicking, Argentina), durante 5 h. Luego se realizó el secado con flujo de aire paralelo a las muestras (1,1 m/s) a 60°C durante 5 h.

Secado con pulsos de microondas y aire caliente (MW+SAC60°C): de forma iterativa se aplicó secado con aire caliente (60°C y 1,1 m/s) durante 1 h y secado con microondas (potencia de 800W) durante 20s (Modelo WMD20SB-WMD20SS, Whirlpool, Argentina) en un total de 5 h de proceso.

Caracterización de muestras

Contenido de agua. La humedad se cuantificó mediante el método gravimétrico, en estufa a 75°C hasta pesada constante (aproximadamente 48 h).

Sólidos solubles. Se cuantificó su contenido de sólidos solubles mediante lectura directa en un refractómetro de Abbe (ICSA OPTIC, modelo WY1A, Industria China) a partir del jugo extraído de la fruta por compresión mecánica. Los resultados se expresaron en °Brix.

Determinación de color. Las medidas instrumentales del color de las muestras de ananá fresco y procesado se efectuaron con un colorímetro (Mini Scan by Hunter Lab, USA), registrándose los parámetros a^* , b^* y L^* . Los valores presentados corresponden a la media de cuatro lecturas.

Con estos valores se calcularon los parámetros ángulo Hue, Chroma y variación total del color ΔE a través de las Ecuaciones (1), (2) y (3):

$$Hue = \tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right), \text{ (cuando } a^* > 0) \quad (1)$$

$$Chroma = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (2)$$

$$\Delta E = \sqrt{(L_0 - L^*)^2 + (a_0 - a^*)^2 + (b_0 - b^*)^2} \quad (3)$$

Donde L_0 , a_0 y b_0 corresponden a las coordenadas de color de la fruta fresca (tiempo 0); L^* , a^* y b^* a las coordenadas de la muestras deshidratadas, a un tiempo de proceso t .

Evaluación de textura. Las propiedades mecánicas fueron evaluadas con un texturómetro universal (TA.XT2 Texture Analyser, Stable Micro Systems, USA), con una celda de carga de 5N. Se realizaron ensayos de compresión uniaxial a las muestras mediante una sonda de acero inoxidable, de sección circular, de 75mm de diámetro, a velocidad constante de 2 mm/s, hasta un nivel de deformación del 70% del espesor de la muestra. Se registraron los datos de fuerza $F(t)$ (N) y distancia $d(t)$ (mm), a partir de los cuales se calcularon los parámetros: Tensión y Deformación de Hencky, Elasticidad (estimado como la pendiente de la parte inicial de la curva de tensión-deformación) y Firmeza (relación entre Tensión y Elasticidad en el punto de máxima tensión).

Los ensayos de compresión se realizaron sobre discos de 30 mm de diámetro, y espesor variable: de 6,2 mm de espesor para la fruta fresca; las frutas tratadas se analizaron con el espesor final luego de los tratamientos: SAC60°C 1,25 mm, SI 1,2 mm, MW+SAC60°C 1,62 mm y DO+SAC60°C con 2,43 mm. Las medidas se realizaron por septuplicado.

Evaluación sensorial

Los ensayos de evaluación sensorial de las muestras de ananá deshidratado con distintos procesos se llevaron a cabo con un panel entrenado de 13 miembros (6 hombres y 7 mujeres), formado por docentes y alumnos de la FCEQyN-Universidad Nacional de Misiones, cuyas edades comprenden entre 24 y 60 años, todos ellos consumidores habituales de fruta de ananá. Los mismos fueron familiarizados con los productos, los atributos y sus definiciones en 7 sesiones. En las dos primeras sesiones grupales, los panelistas se familiarizaron con las características de los productos y crearon términos descriptivos de los mismos. Los atributos generados fueron utilizados para el análisis descriptivo de las muestras. En las tres sesiones siguientes se efectuó el entrenamiento del panel, donde se presentaron las referencias o estándares de cada atributo para orientar a los catadores.

En dos sesiones, efectuadas en días diferentes, los panelistas catalogaron los atributos utilizando escalas estructuradas ancladas en los extremos. Cada catador recibió cuatro muestras (ananá deshidratados según los cuatro tratamientos descritos: SAC60°C, SI, DO+SAC60°C y MW+SAC60°C), cada una en platillo individual de plástico blanco, codificadas con algoritmos de tres dígitos junto a una planilla donde se le solicitaba que después de probar cada producto lo clasifique de acuerdo a los atributos seleccionados. Conjuntamente, se otorgó a cada catador un vaso de agua y galletitas crack.

Los ensayos se realizaron en un laboratorio adaptado para ensayos sensoriales, con cabinas individuales para cada evaluador en la etapa de medición.

Análisis estadísticos

Los datos obtenidos se analizaron mediante ANOVA de un factor y con pruebas de comparaciones múltiples de Tukey ($p < 0,05$) utilizando el programa estadístico Statgraphics plus (v. XVI).

RESULTADOS Y DISCUSION

Caracterización de las muestras

El contenido promedio de humedad (en base húmeda) del ananá fresco fue de $88,06 \pm 2,28$ (g agua/100g fr fresca). Los sólidos solubles totales fue de $11,52 \pm 1,38$ °Brix correspondiente a una fruta en su estado de madurez adecuado. El contenido promedio de agua de las muestras de ananá deshidratado fue $25,86 \pm 7,24$ g agua/100g fr fresca.

Determinación de color

Los resultados de las medidas instrumentales de color se presentan en la **Tabla 1**.

Tabla 1: Valores medios de las medidas instrumentales de parámetros de Color

<i>Muestra</i>	<i>L*</i>	<i>a*</i>	<i>b*</i>	<i>Hue</i>	<i>Chroma</i>	<i>ΔE</i>
Fruta Fresca	78,95±0,52ad	4,52±0,39ad	46,77±0,80ad	84,48	46,99	
SAC60°C	79,62±3,16ac	3,02±2,36ac	44,31±1,69a	86,05	44,47	2,96
SI	73,24±3,55b	6,56±1,74b	54,11±2,02b	83,11	54,53	9,52
MW+SAC60°C	76,95±2,27cd	4,01±1,81cd	49,63±3,48cd	85,31	49,82	3,52

DO+SAC60°C 80,87±1,55a 2,17±1,56a 45,49±3,02 87,33 45,56 3,29

***Letras diferentes en cada columna señalan diferencia significativa a un nivel de significancia del 95% (p<0.05)**

Las frutas secadas con SI presentaron los cambios de color más importantes. La fruta con mayor luminosidad, menor valor de a* fue la secada por DO+SAC60°C, resultado similar fue detectado por análisis sensorial. Con respecto al parámetro Hue se registraron valores entre 80° y 90°, indicando que se mantiene prácticamente sin cambios, en la zona del color amarillo. No hubo diferencias entre los valores de Hue de la fruta fresca y de la fruta deshidratada, pero sí entre las secadas con SI y los otros tratamientos. Los valores del Croma estuvieron comprendidos en el rango de 41 y 57. Este parámetro demostró un comportamiento similar al Hue, ya que las frutas secadas con SI fueron las que presentaron mayor saturación de amarillo, lo que las hizo diferenciarse de los demás tratamientos. Los resultados de ΔE, calculados como la diferencia de color entre las frutas procesadas y la fruta fresca, se concluye que el proceso que más afecta a la coloración de la fruta es la secada por SI.

Evaluación de textura

Los resultados instrumentales de textura fueron útiles para caracterizar a las diferentes muestras de ananá (**Tabla 2**). Se observa que hubo una marcada disminución de la firmeza y de la elasticidad de las frutas deshidratadas en comparación a la fruta fresca, la cual se observó mayores valores en los parámetros medidos fuerza, tensión, elasticidad y firmeza, excepto deformación. Esto puede deberse a la pérdida de agua del

producto y al cambio estructural que ocurre durante el secado de productos vegetales. El secado a bajas temperaturas produce un movimiento uniforme del contenido de humedad, induciendo bajas tensiones internas produciendo una baja porosidad en el material seco, en cambio, el secado a altas temperaturas provoca el endurecimiento de la superficie del material biológico con alta porosidad (Khraisheh *et al.* 2004).

Las frutas tratadas con SAC 60°C fueron las que tuvieron menores valores de fuerza, tensión, deformación y firmeza, en cambio fue la más elástica. En aquellas tratadas con DO+SAC60°C se observó mayores valores de fuerza máxima y deformación.

Tabla 2: Valores de propiedades mecánicas resultantes de compresión uniaxial

Tratamientos	Fuerza max	Tensión σ (N)	Elasticidad	Deformación ε	Firmeza
FrFr	39,14	5779,03	5406,39	0,60	9568,68
MW+SAC60°C	14,32	679,46	301,88	1,86	365,39
SI	14,73	1138,43	379,17	1,90	599,04
SAC 60°C	3,96	178,37	547,51	1,28	139,62
DO+SAC60°C	22,64	817,90	237,96	1,96	416,78

Evaluación sensorial

La primera etapa de la evaluación sensorial fue la generación de vocabulario por parte de los panelistas y la elección de los atributos que caracterizan a las muestras (**Tabla 3**). Estos

atributos fueron utilizados para el análisis descriptivo de las muestras.

Tabla 3: Atributos y descriptores de ananá deshidratado

Atributo	Descriptores
Color	Amarillo
	Pardo
Aroma	Ananá fresco
Sabor	Ananá fresco
	Dulce
Textura bucal	Dureza
	Cohesividad

En la **Tabla 5** se presentan los promedios de la calificación de los panelistas obtenidos en la medición final para cada atributo según tipo de secado.

Tabla 5: Valores promedios según el tipo de tratamiento

Atributos	SAC 60°C	SI	MW+SAC 60°C	DO+SAC 60°C
Color amarillo	6,57 abc	7,54 a	6,32 abc	5,25 c
Color pardo	5,43 a	6,11 a	4,18 bc	3,04 c
Aroma	3,39 a	6,11 bc	5,50 cd	4,75 db
Dulce	3,21 a	4,86 b	4,25 ab	7,61 c
Sabor Fruta Fresca	5,18 a	5,25 a	5,89 a	4,04 a
Cohesividad	6,25 a	5,36 a	5,82 a	4,89 a
Dureza	7,82 a	4,96 b	5,25 cb	4,21 dc

*Letras distintas en cada fila indican diferencias significativas de cada atributo según el test de Tukey ($p < 0.05$).

Los panelistas consideraron que existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los ananás deshidratados utilizando los cuatro tratamientos en los siguientes descriptores: colores amarillo y pardo, aroma, sabor dulce, y dureza, donde se observó que $F_{exp} > F_{crit}$. En cambio, no han detectado diferencias en los descriptores sabor característico a la fruta fresca y cohesividad.

Las diferencias respecto al atributo color amarillo se encuentra entre las muestras tratadas con SI y DO+ SAC60°C, siendo las muestras secadas con SI las que registran los valores más altos en el atributo color amarillo, señalando mayor intensidad de color. Estos resultados están en concordancia con los obtenidos de las medidas instrumentales del color. Ensayos con DO+SAC60°C presentaron una coloración amarilla más clara.

De igual manera, para el atributo color pardo, se observa la mayor puntuación en las muestras tratadas con el método de SI. Esta coloración puede ser atribuida a reacciones de oxidación o de pardeamiento enzimático. Ho *et al.* (2001) estudiaron el secado de patata en un equipo con bomba de calor. Mediante la simulación y optimización del proceso, los autores lograron determinar diferentes condiciones en el esquema de intermitencia (temperatura y duración de los periodos de calentamiento y reposo) que disminuyen la degradación de ácido ascórbico, el pardeamiento enzimático y el consumo energético. La menor coloración parda fue atribuida a las muestras tratadas con DO+ SAC60°C que a su vez difiere significativamente ($p < 0,05$) de las demás muestras. Diversos estudios demostraron que los azúcares empleados en la solución osmótica quedan sobre la superficie de la fruta, ejerciendo un efecto protector frente a reacciones de oxidación en áreas directamente en contacto con el oxígeno del aire de secado, y por ende

disminuyen las variaciones del color en los procesos combinados de DO+SAC, en ananá (Lombard *et al.*, 2008; Ramallo y Mascheroni, 2012), en pimienta (Vega, 2003) y en melón (Velarde-Parra *et al.*, 2008).

Se observa que aquellas que fueron tratadas por el método continuo de secado retienen en menor medida su aroma típico a fruta fresca, habiendo una marcada diferencia con respecto a las demás muestras ($p < 0,05$).

Con respecto al sabor dulce, como es de esperar, las muestras que fueron tratadas con DO+ SAC60°C, presentan mayor valoración y existe una notable diferencia ($p < 0,05$) respecto a las otras muestras.

No se han observado diferencias significativas en cuanto al sabor característico de fruta fresca entre las muestras de ananá deshidratado con los distintos métodos. Se puede inferir que las tratadas con microondas tuvieron una mayor puntuación y las tratadas con DO+ SAC60°C la menor puntuación.

De manera similar al atributo sabor, en cohesividad tampoco se encontraron diferencias significativas entre los cuatro tratamientos. La mayor puntuación en este caso le corresponde las frutas que fueron secadas por SAC 60° C y las que fueron tratadas con DO+ SAC60°C recibieron la menor puntuación.

Finalmente, se observó una mayor puntuación al atributo dureza a aquellas muestras tratadas con SAC 60° C con una diferencia significativa respecto a los 3 métodos de secado. Las muestras tratadas con DO+ SAC60°C fueron las que recibieron menor valoración, lo que demuestra que fueron las más blandas.

Para una mejor visualización de las diferencias encontradas en las distintas muestras de ananá a continuación se presenta el siguiente gráfico (**Figura 1**) con los descriptores analizados.

En términos generales se puede inferir que la muestra tratada con DO+ SAC60°C presentó menor puntuación en coloración amarilla y parda, sabor a ananá fresco, en dureza y aroma típico de ananá, pero una puntuación notablemente superior en el sabor dulce, lo que era de esperar debido al tipo de tratamiento aplicado. Las muestras tratadas con SAC60°C recibieron mayor puntaje en dureza y muy bajo puntaje en sabor dulce y aroma. Para el caso de aquellas muestras que fueron tratadas con el SI presentaron una mayor puntuación en coloración parda y amarillo, lo que demuestra que dicho tratamiento intensifica la coloración de las muestras, además de mayor puntuación en el aroma.

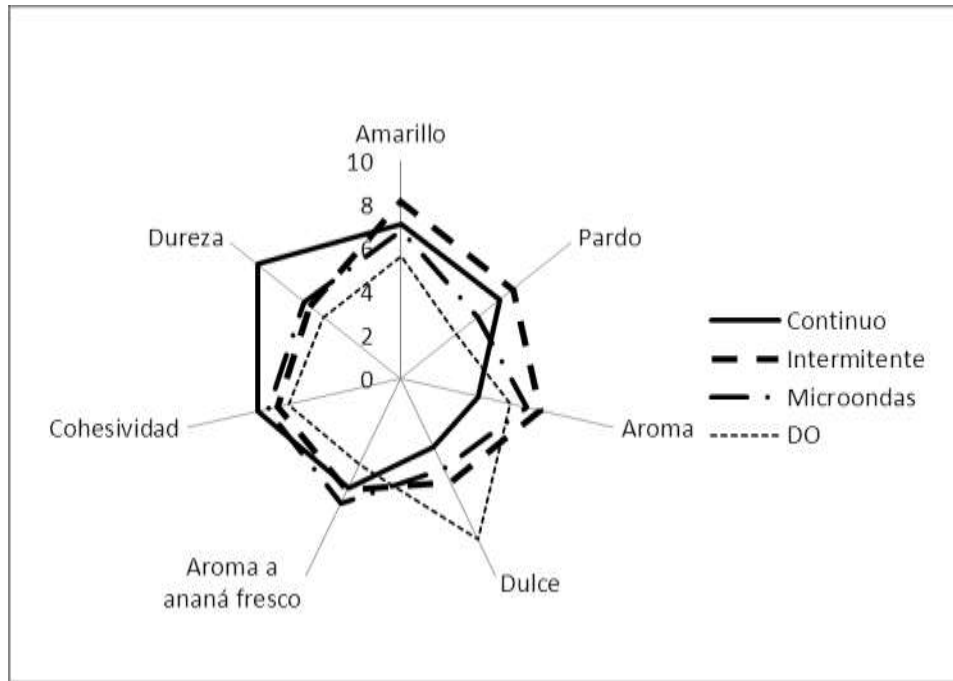


Figura 1: Representación tipo "Tela de araña" del perfil sensorial de ananá deshidratado

CONCLUSIONES

El ensayo descriptivo de ananá deshidratado permitió determinar los principales atributos que caracterizan a estos productos, como así también poder evaluar que existen diferencias entre los cuatro métodos de secado.

Se concluye que las muestras de ananás deshidratadas por diferentes métodos mostraron diferencias significativas en los siguientes descriptores: color amarillo y pardo, aroma, dulzor y dureza. En cuanto a la cohesividad y sabor a ananá fresco no se observan diferencias entre las muestras, lo que indica que los tratamientos no afectan significativamente a dichas propiedades.

Las muestras tratadas con deshidratación osmótica presentó menor puntuación en coloración amarilla y parda, sabor a ananá fresco, en dureza y aroma, pero la mayor puntuación en el sabor dulce. Las muestras tratadas con el secado continuo sobresalieron en el atributo dureza. Aquellas muestras tratadas con secado intermitente presentaron una mayor puntuación en coloración parda y amarillo, lo que demuestra que dicho tratamiento intensifica la coloración de las muestras.

BIBLIOGRAFÍA

Aquerreta J, Iguá, A, Arroqui C, Vírseda P. 2007. Effect of high temperature intermittent drying and tempering on rough rice quality. *Journal of food Engineering*, 80:611-618.

Barbosa G, Vega H. 2000. *Deshidratación de Alimentos*. Zaragoza - España, Editorial Acirbia S.A. pag 235-253

Bonazzi C y Dumoulin E. 2011. Cap. 1: Quality Changes in Food Materials as Influenced by Drying Processes. Tsotsas E, Mujumdar AS. *En: Modern Drying Technology, Volume 3: Product Quality and Formulation*. Alemania.

Carbonell L, Izquierdo L, Carbonell I. 2007. Sensory analysis of Spanish mandarin juices. Selection of attributes and panel performance. *Food Quality and Preference*, 18:329-341.

Chua K.J, Mujumdar A.S., Chou S.K. 2003. Intermittent drying of bioproducts - an overview. *Bioresource Technology*, 90: 285- 295.

Chua K.J., Mujumdar A.S., Chou S.K., Hawlader M.N.A., Ho J.C. 2000. Convective drying of banana, guava and potato pieces: Effect of cyclical variations of air temperature on drying kinetics and color change. *Drying Technology*, 18 (4-5): 907- 936.

Coste E, Bauzá M, Picallo A, Sance M. 2010. *Rev. de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo*, 42:157-168.

Da Silva Berilli S, Bergara Almeida S, Cordeiro de Carvalho AJ, Freitas SJ, ANA Berilli PCG, Dos santos PC. 2011. Avaliação sensorial dos frutos de cultivares de abacaxi para consumo in natura. *Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP, Volume Especial*, E. 592-598.

Datta AK, Anantheswaran RC. 2001. *Handbook of Microwave Technology for Food Applications*. Ed. Marcel Dekker, New York,

USA. pag. 115–118.

Díaz GR, Martínez-Manzo J, Fito P. y Chiral A. 2003. Modelling of dehydration–rehydration of orange slices in combined microwave/air drying. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 4: 203 – 209.

Ertekin F, Cakaloz T. 1996. Osmotic dehydration of peas: Influence of process variables on mass transfer. *Journal of Food Proc. Preserv*, 20: 87-104.

García PA, Muñiz BS, Hernández Gómez A, González LM, Fernández Valdés D. 2013. Analysis of the Osmotic and Hot air dehydration kinetic of pineapple fruit (*Ananas Comosus*, Cayena Lisa variety). *POSTHARVEST: BIOLOGY AND TECHNOLOGY*. ISSN 2071-0054. Vol.22 no.1.

Ho JC, Chou SK, Mujumdar AS, Hawlader MNA, Chua KJ. 2001. An optimisation framework for drying of heat-sensitive products. *Applied Thermal Engineering*, 21: 1779-1798.

Hough G, Puglieso ML, Sanchez R, Mendes da Silva O. 1999. Sensory and Microbiological Shelf-Life of a Commercial Ricotta Cheese. *Journal of Dairy Science*, 82(3):454–459.

Hough G, Fiszman S. 2005. Estimación de la vida útil sensorial de los alimentos. Madrid, España. Ed. Programa CYTED. Pag. 18

Islam R, Ho JC, Mujumdar AS. 2003. Convective drying with time-varying heat input: Simulation results. *Drying Technology*, 21(7): 1333- 1356.

Jumah R, Al-Kteimat E, Al-Hamad A, Telfah E. 2007. Constant and intermittent drying characteristics of olive cake. *Drying Technology*, 25: 1421-1426.

Khraisheh MA, McMin WA, Magee TR. 2004. Quality and structural changes in starchy foods during microwave and convective drying. *Food Res. Int.* 37(5): 497–503.

Lombard G, Oliveira J, Fito P, Andre´s A. 2008. Osmotic

dehydration of pineapple as a pre-treatment for further drying. *Journal of Food Engineering* 85:277–284.

Mohammad Al-H, Ala'a H. Al-M, T.R.A. M. 2009. Microwave drying kinetics of tomato pomace: Effect of osmotic dehydration. *Chemical Engineering and Processing*, 48: 524–531

Nishiyama Y, Cao W, Li B. 2006. Grain intermittent drying characteristics analyzed by a simplified model. *Journal of Food Engineering*, 76: 272-279.

Ramallo LA, Mascheroni RH. 2012. Quality Evaluation of Pineapple Fruit During Drying Process. *Food And Bioproducts Processing*, 90:275-283.

Rodríguez S y Qüesta A. 2009. Evaluación sensorial de vegetales frescos y mínimamente Procesados. *Trabajos Completos del Congreso Latinoamericano de Ingeniería y Ciencias Aplicadas*. Universidad Nacional de Santiago del Estero. Argentina. <http://www.fcai.uncu.edu.ar/upload/29atc-rodriquez-unse.pdf>.

Shei HJ, Chen YL. 2002. Computer simulation on intermittent drying of rough rice. *Drying Technology*, 20(3): 615-636.

Shiffman R. 1985. An update of the application of microwave power in the Food industry. *Journal of microwave Power* 5:221 – 224.

Stone H, Sidel J. 1993. Sensory evaluation practices. 2ªed. London: Academic Press. Pag 103-104.

Thomkapanich O, Suvarnakuta P, Devahastin S. 2007. Study of intermittent low-pressure superheated steam and vacuum drying of heat-sensitive material. *Drying Technology*, 25:205-223.

Torreggiani D y Bertolo G. 2002. The role of an osmotic step: Combined processes to improve quality and control functional properties in fruit and vegetables. En: JW Chanes, GV Barbosa-Cánovas, JM Aguilera, editores. *Engineering and food for the 21st century*. pag 651-669.

Tuyen TT, Truong V, Fukai S, Bhandar, B. 2009. Effects of high-temperature fluidized bed drying and tempering on kernel cracking and milling quality of Vietnamese rice varieties. *Drying Technology*, 27:486-494.

Vega A. 2003. Estudio de la Deshidratación y Rehidratación del Pimiento Rojo (*Capsicum Annuum* L.) var. Lamuyo. (Tesis doctoral). Universidad. Politécnica de Valencia, España.

Velarde-Parra L, Nafarrate-Miranda E, Costich-Costich, G, Luna-Valdez J, Noriega-Muñoz, F. 2008. Evaluación de la calidad de rebanadas de melón deshidratadas osmóticamente y al vacío. Publicado en Actas del X Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, México

Yan Z, Sousa-Gallagher MJ, Oliveira FAR. 2008. Shrinkage and porosity of banana, pineapple and mango slices during air-drying. *Journal of Food Engineering* 84:430-440.

INFLUENCIA DEL GENOTIPO, LOCALIDAD Y AÑO DE COSECHA EN EL CONTENIDO DE PROTEÍNAS Y MINERALES DE TRIGO PAN

Vignola M.B.¹, Monferrán M.², Moiraghi M.¹, Baroni M.V.², Pérez G.T.¹

1: Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos Córdoba (ICyTAC). Facultad de Ciencias Agropecuarias, UNC.

2: Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos Córdoba (ICyTAC). Córdoba, Argentina
belenvignola@agro.unc.edu.ar

Resumen: El objetivo del trabajo fue evaluar la variación en el contenido de proteínas y minerales en cultivares comerciales de trigo pan y determinar la contribución del genotipo, el año de cosecha y la localidad en dicha variabilidad. Los once cultivares fueron cosechados en tres sub-zonas trigueras de Argentina (Marcos Juárez, Reconquista, Barrow) en dos años consecutivos (2009, 2010). Se determinó la concentración de minerales y el análisis fue llevado a cabo utilizando un ICP-MS. El contenido de proteínas se determinó mediante NIR. Ambas determinaciones fueron realizadas en el grano entero. Los valores de proteína variaron entre 9,15 y 16,50% y la mayor variabilidad encontrada fue principalmente explicada por el año de cosecha. El año de cosecha y localidad tuvieron una gran influencia en la variabilidad encontrada en todos los minerales. El cultivar Klein Guerrero presentó la mayor y menor concentración de Zn y Fe, respectivamente. En el año 2010, la distribución de los minerales fue mas homogénea que en el 2009. Se encontró una correlación

positiva entre las concentraciones de Zn y Fe (r : 0.43). Estos resultados demuestran la importancia de las condiciones ambientales (climáticas y edáficas) en el desarrollo del grano de trigo y la calidad nutricional del mismo.

Palabras clave: Proteína, Minerales, Trigo Pan

Abstract: The aim of this research was to evaluate the variation in the content of proteins and minerals, and determined the contributions of genotype, harvest year and location to this variability. Eleven commercial bread wheat cultivars were grown at three different locations in Argentina (Marcos Juárez, Reconquista, Barrow) and harvested in two consecutive periods (2009, 2010). Protein and mineral contents were determined in whole grain meal. Protein values were between 9.15 to 16.50% and the variability found was mostly explained by the harvest year. Regarding mineral grain content, harvest year and location had greater influence on the variability found in all minerals. The Klein Guerrero cultivar presented the highest and lowest concentration of Zn and Fe, respectively. In 2010, the distribution of health-related minerals (Na, K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn) was more homogeneous than in 2009 for all of them. There was a significant correlation between Zn and Fe concentration (r : 0.43). These results demonstrated the importance of climatic conditions in the grain development and nutritional quality.

Keywords: proteins, minerals, bread wheat

INTRODUCCIÓN

Los cereales son uno de los alimentos básicos en la nutrición humana, entre ellos, el maíz, el trigo y el arroz en conjunto representan el 80% de la producción total. De estos tres cultivos, el trigo es uno de los cereales más cultivado y consumido por los seres humanos (Shewry *et al.* 2010).

La mayoría de los estudios sobre los trigos Argentinos están enfocados en el contenido de proteína y las propiedades de la harina blanca (endosperma), mientras que los componentes del grano entero, principalmente harina integral (capas de aleurona, salvado), no se analizan profundamente a pesar de su importante papel en la calidad nutricional.

Las proteínas son reconocidas como el componente más importante que gobierna la calidad panadera y han sido tradicionalmente clasificadas como proteínas estructurales (albuminas y globulina) y proteínas de reserva (gliadina y glutenina) de acuerdo a su solubilidad (Osborne 1907). El contenido de proteínas en el grano de trigo varía entre 8-16% y dicho rango es el resultado de efectos genéticos y ambientales, especialmente déficit hídrico y altas temperaturas (Triboi *et al.* 2000). Dicho contenido es importante por dos razones: primero porque es un nutriente importante en nuestra dieta, por lo tanto el tipo y cantidad es crucial desde un punto de vista nutricional; y segundo, porque dicho contenido influye en el uso final de la harina. En el proceso de molienda del grano para la obtención de harina blanca, el contenido total de proteína disminuye, en promedio, un 1%. Considerando que el endosperma equivale a un 70% del total del peso del grano, la fracción de aleurona tiene

más contenido de proteína que el endosperma. Las proteínas de dicha fracción no contienen gluteninas ni gliadinas y por lo tanto son mucho mejores desde un punto de vista nutricional (Hoseney 1986).

El estado nutricional de las personas está influenciado no sólo por la ingesta de la cantidad necesaria de alimentos, sino también por la calidad de los mismos. Los minerales están principalmente presentes en la capa de aleurona pero, por desgracia, esta capa también puede contener cantidades significativas de antinutrientes, como el ácido fítico (Guttieri *et al.* 2006). Estudios recientes muestran que la deficiencia de Fe afecta a más de 3 millones de personas (Welch y Graham 2004), y hasta un tercio de la población de los países en desarrollo sufren de deficiencia de Zn (Hotz y Brown 2004). La insuficiencia tanto de Fe y Zn afecta significativamente la salud humana causando cambios en el sistema inmunológico, en el crecimiento físico y mental, que afecta el desarrollo cognitivo y causa anemia, morbilidad y mortalidad (Hotz y brown 2004, Gibson 2006). Es importante estudiar el contenido de estos minerales en el trigo con el fin de evaluar no sólo la magnitud de esta deficiencia en la harina, sino también su efecto potencial sobre la salud humana. Varios informes han indicado efectos significativos del genotipo y el medio ambiente (las propiedades del suelo, lluvia) en las concentraciones finales de micronutrientes del grano (Morgonov *et al.* 2007; Ficco *et al.* 2009; Zhao *et al.* 2012).

El objetivo del trabajo fue evaluar la variación en el contenido de proteínas y minerales en cultivares comerciales de trigo pan y determinar la contribución del genotipo, el año de cosecha y la localidad en dicha variabilidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Vegetal

Once cultivares de trigo pan (ACA 303, ACA 315, ACA 320, Baguette Premiun 11, Biointa 3004, Buck 75 Aniversario, Cronox, Klein Capricornio, Klein Guerrero, Klein Yarara, LE 2330) fueron sembrados en 3 localidades distintas en Argentina: Reconquista (sub región I), Marcos Juárez (sub región II) y Barrow (sub región IV). Dichos cultivares fueron provistos por la Red de Ensayos comparativos de Trigo (RET) y cosechados en dos periodos consecutivos (2009-2010 and 2010-2011). Se realizó un diseño en bloque al azar con tres repeticiones y la fertilización con nitrógeno fue aplicada en ambos años de acuerdo a las prácticas locales. La localización y datos meteorológicos de las 3 regiones se muestran en la **Tabla 1**.

Tabla 1: Localización y Condiciones climáticas de las 3 regiones

Localidad	Altitud (m)	S latitud	W latitud	Precipitación anual promedio (mm)	Temperatura anual promedio (°C)
Marcos Juarez	110	32°42	62°6	800	24.2
Reconquista	49	29°14	59°56'	1.408	20
Barrow	112	38°22	60°16	800	14

Análisis Químicos

Contenido de proteína

Los granos fueron molidos en un molino de café. El contenido de humedad y la concentración de proteínas en el grano se

determinaron por NIR usando un Infratec 1241 (Foss, Dinamarca) de acuerdo con el método de la AACC 39-25 en granos de trigo al 13,5% en base seca (AACC, 2010).

Determinación de la concentración de minerales

La determinación de minerales fue llevada a cabo de la siguiente manera: 0,25 g de harina integral seca fue pesada en frasco de teflón de 25 ml. Los frascos fueron cerrados luego de la adición de 4 ml de HNO₃ suprapuro y 0,2 ml de H₂O₂ y colocados en una plancha de calentamiento (Decalab, Argentina) a 180°C, aproximadamente por 24 hs. Luego de enfriarse la muestra digerida fue transferida a un matraz de 10 ml completando dicho volumen con agua milli-Q, seguido de una filtración usando membranas de 0,45 µm. El material de referencia certificado (CRM) fue harina blanca 1567a obtenido del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (Gaithersburg, MD, USA). En la digestión se obtuvieron valores de minerales que varían entre 85 y 105% de los valores certificados. Se determinó la concentración de elementos minoritarios y mayoritarios incluyendo: Al, Zn, Cu, Mn, Fe, Ca, Pb, K, Li, Mg, Cr, Co, Ni, Se, Rb, Sr, Mo, Cd, Ba, Na, As. El análisis de elementos se realizó con un Espectrómetro de Masas con Plasma Inductivo Acoplado (Q-ICP-MS) (Agilent Technology 7500 cx Series, Santa Clara, CA, USA), equipado con un autosampler serie ASX-500 (Agilent Technology, Santa Clara, CA, USA) (Podio *et al.* 2013).

Análisis estadísticos

Los resultados fueron expresados como el promedio de dos réplicas. Los datos fueron analizados con un test de Fisher con

un nivel de significancia de 0,05. La relación entre los parámetros analizados fue descripta por un test de Pearson (*,** niveles de significancia de $p < 0,05$ y $p < 0,001$; respectivamente). Se realizó un análisis de componente principales (PCA)-Biplot para la interacción entre genotipos y ambientes para el contenido de minerales. Todos los análisis fueron llevados a cabo utilizando el software estadístico INFOSTAT (Di Rienzo *et al.* 2012).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido de proteínas y minerales se determinó en el grano entero de 11 genotipos de trigo cultivados en 3 localidades distintas durante dos años consecutivos.

El contenido de proteínas varió entre 9,15 y 16,5%. Valores similares fueron obtenidos para diferentes variedades de trigo en otros estudios (Ram y Singh 2004, Flagella *et al.* 2010, Vazquez *et al.* 2012, Lerner *et al.* 2004, Moiraghi *et al.* 2013). El contenido de proteína promedio para el año 2009 fue de 14,35% mientras que para el año 2010 fue 12,29%. El único F-valor significativo para el contenido total de proteínas que mejor explica la variabilidad encontrada fue el año de cosecha (**Tabla 2**). Sin embargo, la localidad tuvo un efecto significativo cuando se analizó cada año por separado. En el 2009, los trigos provenientes de Reconquista tuvieron los valores de proteínas más altos (15,4%) mientras que en 2010 los cultivares de Reconquista tuvieron valores significativamente más bajos (10,68%) comparado con las otras dos localidades (13,06%). De acuerdo con los datos registrados por el Instituto Nacional de Semillas (INASE) en la localidad de Reconquista en el año 2009, hubo un severa sequía en los primeros estadios del desarrollo del cultivo lo cual dio como

resultado en un alto porcentaje de proteína presente en el trigo. Este incremento en el contenido total de proteínas fue previamente descripto por otros autores en diferentes ambientes (Rharrabti *et al.* 2003, Guttieri *et al.* 2005). La sequía produce altos niveles de acumulación de nitrógeno en el grano y bajos índices de acumulación de carbohidratos. Reconquista también presentó altas temperaturas en el periodo de llenado de grano lo cual se sabe que también tiene una influencia significativa en la cantidad de proteínas acumuladas en el grano y en la relación de las diferentes fracciones de proteínas (Majoul-haddad *et al.* 2013). Diferencias significativas fueron a su vez reportadas por Dionisio (2003), quien encontró valores de proteínas diferentes en 3 localidades y 2 años de estudio en Argentina así como también Mortarini *et al.* (2004) y Vazquez *et al.* (2012) quienes concluyeron que el ambiente fue la fuente de variación más importante en el contenido de proteínas de los granos de trigos Argentinos. No se encontraron diferencias significativas entre genotipos así como tampoco en la interacción genotipo x localidad en concordancia con Pomeranz *et al.* (1985) y Fuentes Mendizabal (2010).

Diecinueve elementos fueron determinados en el grano entero (Zn, Cu, Mn, Fe, Ca, K, Mg, Rb, Sr, Mo, Cd, Ba, Na, Li, Al, Se, As, Pb, Co) (**Tabla 2**). Seis de 19 elementos mostraron valores por debajo del límite de detección: As, Pb, Li, Al, Se, Co. Los valores promedios de Cd, As, Pb y Cr fueron 0,02; 0,00; 0,01 y 0,03 mg/Kg, respectivamente. Estos valores estuvieron por debajo del límite establecido por el Código Alimentario Argentino indicando que dichos trigos son aptos para consumo humano. Potasio (K) fue el elemento más abundante en los trigos estudiados seguido por Mg, Ca, Na, Mn y Fe. Todos los elementos mostraron diferencias significativas entre los años de

estudio excepto el Mn y Ni. La concentración de 11 elementos (Zn, Mn, Fe, Ca, Mg, Rb, Sr, Mo, Cd y Ba) fue significativamente diferente entre las 3 localidades estudiadas y todos los elementos presentaron diferencias significativas en su concentración para los genotipos. Basado en los f-valores de ANOVA, el año de cosecha tuvo la mayor influencia en la variabilidad encontrada en 8 elementos mientras que para otros 5 elementos la variabilidad fue afectada en mayor medida por la localidad (**Tabla 2**). El cultivar Klein Guerrero presentó la mayor y menor concentración de Zn y Fe respectivamente, diferenciándose significativamente del resto de cultivares. Baguette Premiun 11 presentó la concentración más baja de Ca mientras que Klein Capricornio la más alta. Observando la **Tabla 2** se puede apreciar que no hay diferencias importantes en la concentración de minerales entre genotipos.

Tabla 2: Contenido y f-valores de minerales (mg/Kg) y proteínas (%) en los 11 cultivares y las 3 localidades*.

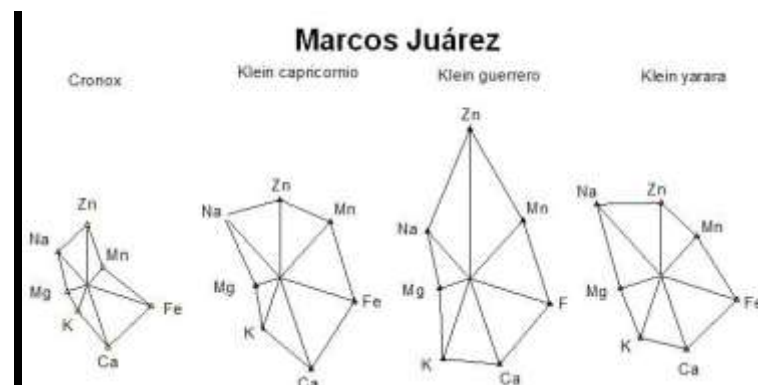
	C		M		M		M		M		M		Pr			
	Zn	u	n	Fe	Ca	K	Mg	Cr	Ni	Rb	Sr	o	Cd	Ba	Na	ot
ACA 303	16,09	2,78	35,39	23,94	29,9,2	325,7,7	84,6,2	0,0,0	0,27	4,1	3,0	0,16	0,0	7,8	54	12,94
ACA 315	15,77	2,53	37,57	23,64	31,2,6	321,6,5	93,5,1	0,0,0	0,24	4,2	3,4	0,18	0,0	7,5	41	13,82
ACA	15,15	3,3	33,33	23,23	32,32	351,95	95,0,0	0,0	0,5,7	3,5	0,3,5	0,0	0,0	7,4	47,	13,

320	62,05	26,23	9,7	6,5	6,8	5b	19	6a	8a	25	2a	6c	5b	94		
	a	b	a	a	8b	4c	a	a		b			a			
Baguette Premiun 11	14,42	3,07	32,38	21,62	25,8,6	276,4,5	91,8,6	0,0,0	0,49	3,6	2,7	0,06	0,0	5,8	42,	34
	a	b	a	a	5a	1a	9a	3b	a	9a	a	a	2a	9b	3a	a
Biointa 3004	17,62	2,76	31,54	26,46	28,3,8	305,9,1	89,0,0	0,0,0	0,38	4,5	2,8	0,06	0,0	7,2	26	61
	b	b	a	b	a	2b	2a	3b	a	3a	8a	a	3b	4c	a	a
Buck 75 Aniversario	16,26	2,88	32,88	26,09	30,6,4	312,3,4	84,8,4	0,0,0	0,21	2,0	3,2	0,12	0,0	4,4	13	51
	a	8b	a	b	3a	6b	3a	3b	a	8a	1a	a	3b	1a	b	a
Cronox	15,87	2,63	33,65	25,71	29,0,2	286,0,9	84,4,8	0,0,0	0,31	3,5	2,6	0,14	0,0	5,8	71	08
	a	b	a	b	a	1a	1a	5b	a	7a	8aa	a	3a	9b	a	a
Klein Capricornio	17,27	2,62	33,9a	27,97	36,2,4	297,4,6	85,8,4	0,0,0	0,35	2,6	3,0	0,06	0,0	6,3	36	34
	b	b	9a	b	b	b	8a	3b	a	a	2a	a	2a	b	a	a
Klein Guerrero	19,12	1,79	35,35	19,64	29,4,2	322,2,8	85,4,7	5,0,0	5,17	4,3	3,0	0,09	0,0	6,4	39	13,
	b	a	1a	a	2a	5b	4a	4b	b	9a	2a	a	2a	8b	a	4a
Klein Yara	14,38	2,15	31,94	28,25	29,9,1	297,8,1	85,7,6	0,0,0	0,38	5,3	3,0	0,05	0,0	6,4	77	19
	a	a	a	3b	2a	8b	1a	4b	a	2a	7a	a	2a	2b	a	a
LE	15,15	2,3	33,33	26,26	29,29	338,97	97,0,0	0,0	0,3,7	3,4	0,3,4	0,0	0,0	8,7	40,	13,

2330	78 a	9b a	63 a	98 b	0,8 5a	6,3c 6a	8,9 6a	1a a	28 a	a	1a a	06 a	2a a	8c a	69 a	39 a
Reco nqui sta	15, 24 a	2, 71 a	30, 41 a	24, 05 a	29 9b	316 2a	86 3a	0, 0,0 5b	33 a	8,1 5b	2,5 1a	14 b	0,0 2a	7,2 b	65 a	13, 75 a
Marc os Juárez	16, 22 a	2, 67 a	41, 07 b	23, 29 a	34 8c	315 4,6	94 4,5	0, 0,0 3a	42 a	1,3 4a	4,5 9b	18 b	0,0 3b	7,5 6b	56 a	18 a
Barr ow	17, 39 b	2, 49 a	31, 14 a	25, 97 b	27 4a	308 8a	85 1a	1, 0,0 3a	74 b	2,0 1a	2,4 2a	03 a	0,0 2a	5,6 8a	77 a	13, 04 a
f- valor L	7,8 3*	2, 53	83, 74 **	30, 5,4 6*	14* *	0,9 6	11, 5**	53 **	2, 12	,48 **	,74 **	,3* *	74* *	14 **	2,8 4	1,0 7
f- valor año	63, 12 **	14 ,2 7*	14, 3,7 1	24, 26 *	6,5 2*	69* *	6,5 **	4,9 1*	1, 5	22* *	29* *	,4 1*	,23 **	99 **	54 **	49 **
f- valor M	5,3 9**	8, 44 **	1,9 6*	4,5 4*	4,0 9**	6,3 1**	3,1 5**	4,1 5**	9* *	3,9 2**	3,8 5**	54 **	7,9 6**	6,8 1**	8,9 8**	0,3
f valor LxM	5,5 9**	91 **	3,6 1**	7* *	1,5 1*	2,8 2**	3,3 8**	5,6 1**	85 **	3,8 **	2,3 6**	2, 6*	2,7 5*	2,5 6*	3,5 5**	0,1 4

* Letras distintas dentro de la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). L: localidad. M: muestra. LxM: Localidad x Muestra. Prot: proteína.

Sin embargo, cuando se analizó el comportamiento de cada genotipo en cada localidad y año, un gran rango de valores fue encontrado. La **Figura 1** muestra la concentración de los minerales más importantes nutricionalmente (Fe, Mn, Zn, K, Ca, Mg, Na) en 4 genotipos (Cronox, Klein Capricornio, Klein Guerrero, Klein Yarara) en 3 localidades y en 2 años de estudio. El largo del rayo representa la concentración de cada mineral. Observamos que el largo varía mucho entre localidades y años para un mismo mineral así como entre genotipos. Este mismo comportamiento se detectó en el resto de los genotipos demostrando la gran importancia de las condiciones climáticas y la localidad en la variabilidad.



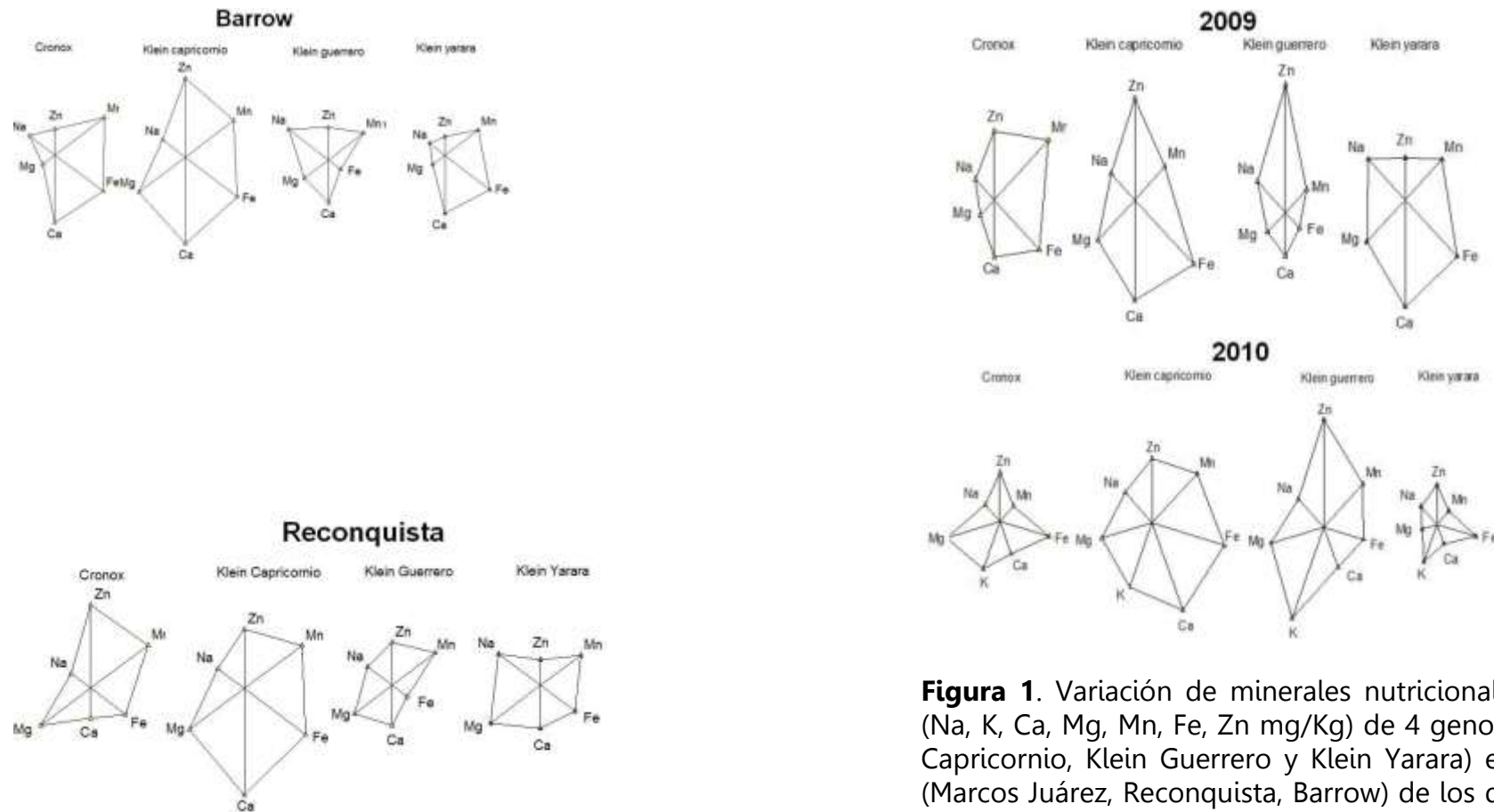


Figura 1. Variación de minerales nutricionalmente importantes (Na, K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn mg/Kg) de 4 genotipos (Cronox, Klein Capricornio, Klein Guerrero y Klein Yarara) en las 3 localidades (Marcos Juárez, Reconquista, Barrow) de los dos años de estudio (2009,2010).

Como mencionamos anteriormente, la concentración de minerales de cada genotipo no respondió de la misma manera en diferentes condiciones ambientales. Para poder visualizar la relación entre la concentración de minerales y los diferentes ambientes se realizó un análisis de componentes principales

(CPA). Las primeras dos componentes explicaron el 100% de la variación total en el contenido de minerales en ambos años (Figura 2). El biplot indica que los cultivares del año 2009 de Marcos Juárez tuvieron una concentración de la mayoría de los minerales mucho más alta excepto para Fe y Rb y que esos minerales diferencian Marcos Juárez del resto. En el año 2010, la distribución fue más homogénea y trigos de Reconquista tuvieron valores más altos de Co, Pb, Ba, Rb, Cu y K.

Las variables climáticas como la temperatura, lluvia y evaporación afectan la toma de nutrientes por parte del cultivo. Se sabe que el nivel de micronutrientes en el grano de trigo está controlado, en su gran mayoría, por factores ambientales e interacción genotipo-ambiente (Morgounov *et al.* 2007; Karami *et al.* 2009; Joshi *et al.* 2010).

Teniendo en cuenta que las deficiencias de Zn y Fe son las formas más generalizadas de las aflicciones de micronutrientes para la salud humana, los resultados de esos minerales se analizaron en detalle. La concentración promedio de Zn en el grano en las 3 localidades y los 11 genotipos varió entre 7,22-39,51 mg/kg con un promedio de 16,26 mg/Kg. El contenido de Fe en el grano también mostró una gran variación entre genotipos y localidades presentando un rango de 5,67 a 41,01 mg/Kg con un promedio de 24,47 mg/Kg. Diferentes autores encontraron concentraciones de Fe y Zn similares a nuestros resultados (Morgounov *et al.* 2007; Zhao *et al.* 2012).

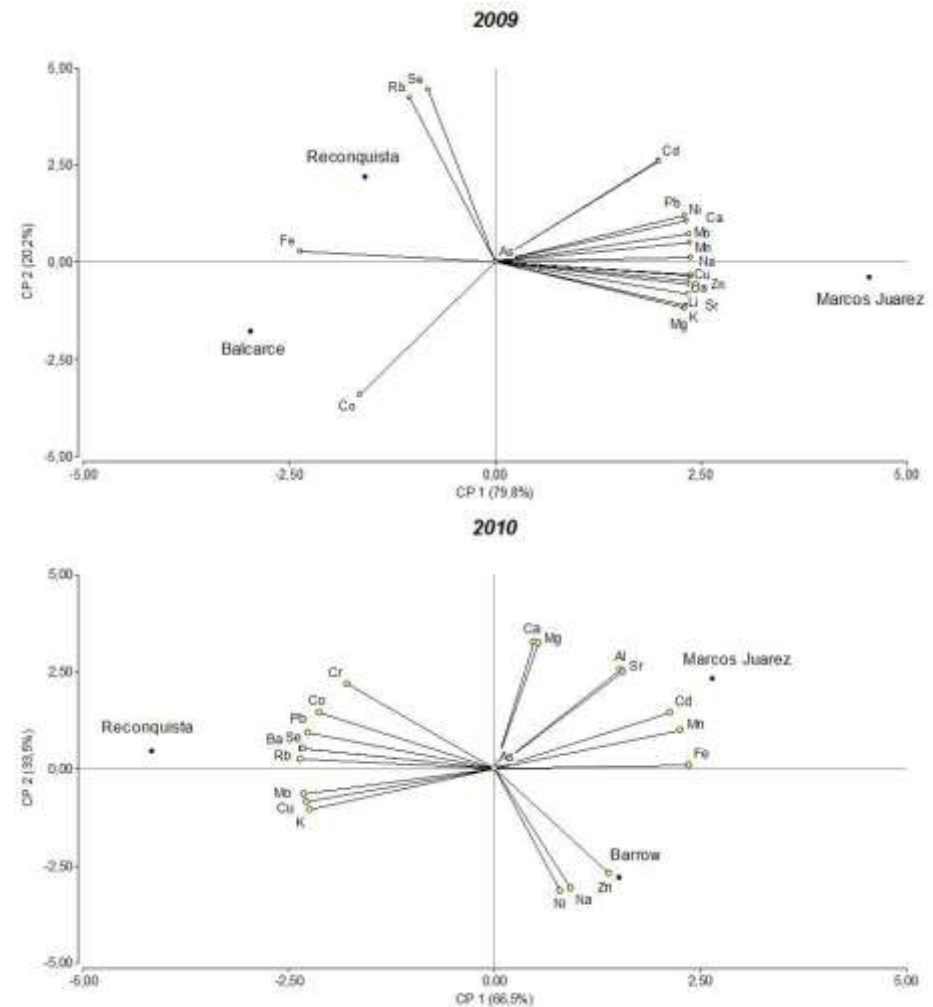


Figura 2. Biplot de análisis de componentes principales de minerales de ambos años (2009, 2010) de las 3 localidades (Marcos Juárez, Reconquista and Barrow).

En el año 2009 las concentraciones de ambos elementos fueron mayores que en el 2010. Trigos provenientes de Barrow presentaron valores más altos de Zn (17,52 mg/kg) y Fe (26,32 mg/kg), diferenciándose significativamente de las otras localidades. La mayoría de la variabilidad encontrada en esos dos elementos fue explicada por el año de cosecha. La variación genotípica para la concentración de Zn y Fe entre cultivares fue baja en comparación con trigos wild, diploides y tetraploides así como lo reportó Cakmak *et al.* (2004) y Velu *et al.* (2013).

Se encontró una correlación significativa entre la concentración de Zn y Fe ($r: 0,43$) de acuerdo con estudios previos (Cakmak *et al.* 2004, Oury *et al.* 2006). Además, entre los 11 cultivares tanto el Fe como el Zn correlacionaron positivamente con la concentración de proteína en el grano en el año 2010 ($r: 0,51$ y $r: 0,42$; respectivamente). Este resultado es consistente con otros ensayos de trigo (Peterson *et al.* 1986, Velu *et al.* 2011) y sugiere que los genes que controlan la concentración de proteína, Zn y Fe están probablemente cosegregando (Cakmak *et al.* 2010).

CONCLUSIONES

Se encontró una significativa variación en la concentración de proteínas y minerales entre los trigos Argentinos. Las condiciones ambientales (localidad y año de cosecha) tuvieron un gran efecto en la concentración de minerales.

Correlación positiva entre la concentración de Fe y Zn y el contenido de proteína indica que la selección y mejoramiento de uno de dichos rasgos puede simultáneamente mejorar los otros. Para los parámetros analizados, la variación asociada al año de cosecha fue generalmente mayor que la proporcionada por la localidad o genotipo. Esto claramente demuestra la importancia del impacto de las condiciones climáticas en el rendimiento. Este estudio ha proporcionado una evaluación exhaustiva del genotipo y la variación ambiental en la calidad nutricional de trigos cultivados en Argentina.

BIBLIOGRAFÍA

- AACC. 2000. Approved Methods of the AACC, 10th ed. Method 56-11. Available online only. AACC International: St. Paul, MN.
- AACC. 2010. Approved Methods of Analysis, 11th Ed. Method 39-25. Available online only. AACC International: St. Paul, MN.
- Cashman KD. 2002. Calcium intake calcium bioavailability and bone health. *Br J Nutr.* 87:169-177.
- Cakmak I, Torun A, Millet E, Feldman M, Fahima T, Korol A, Nevo E, Braun HJ, Özkan H. 2004. *Triticum dicoccoides*: an important genetic resource for increasing zinc and iron concentration in modern cultivated wheat. *Soil Sci. Plant Nutr.* 50:1047-1054.
- Cakmak I, Kalayci M, Kaya Y, Torun AA, Aydin N, Wang Y, Arisoy Z, Erdem H, Yazici A, Gokmen O, Ozturk L, Horst WJ. 2010. Biofortification and localization of zinc in wheat grain. *J. Agric. Food Chem.* 58: 9092-9102.
- Dionisio G. 2003. Interacción genotipo por ambiente sobre caracteres de calidad comercial e industrial en trigo pan (*Triticum aestivum* L.). Universidad Nacional de Rio Cuarto. 44:46.
- Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. InfoStat versión 2012. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.
- Flagella Z, Giuliani MM, Giuzio L, Volpi C, Masci S. 2010. Influence of water deficit on durum wheat storage protein composition and technological quality. *Eur. J Agron.* 33:197-207.
- Ficco DBM, Riefolo C, Nicastro G, De Simone V, Di Gesu AM, Beleggia R, Platani C, Cattivelli L, De Vita P. 2009. Phytate and

mineral elements concentration in a collection of Italian durum wheat cultivars. *Field Crops Research*. 111:235-242.

Fuentes-Mendizabal T, Aizpurua A, Gonzales-Moro MB, Estavillo JM. 2010. Improving wheat breadmaking quality by splitting the N fertilizer rate. *Eur J Agron*. 33:52-61.

Gibson RS. 2006. Zinc: the missing link in combating micronutrient malnutrition in developing countries. *Proc. Nutr. Soc.* 65, 51-60.

Gomez-Becerra HF, Yazici A, Ozturk L, Budak H, Peleg Z, Morgounov A, Fahima T, Saranga Y, Cakmak I, 2010. Genetic variation and environmental stability of grain mineral nutrient concentrations in *Triticum dicoccoides* under five environments. *Euphytica*. 171:9-52.

Guttieri MJ, McLean R, Stark JC, Souza E. 2005. Managing irrigation and nitrogen fertility of hard spring wheats for optimum bread and noodle quality. *Crop Sci*. 45:2049-2059.

Guttieri MJ, Peterson KM, Souza EJ. 2006. Agronomic performance of low phytic acid wheat. *Crop Sci*. 21:2623-2629.

Hoseney RC. 1986. *Principles of Cereal Science and Technology*. 2nd edit. Minnesota: American Association of Cereal Chemist, Inc. pag 70-72.

Hotz C, Brown, KH 2004. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food Nutr. Bull.* 25:94-204.

Joshi A, Crossa J, Arun B, Chand R, Trethowan R, Vargas M, Ortiz-Monasterio I. 2010. Genotype × environment interaction for zinc and iron concentration of wheat grain in eastern Gangetic plains of India. *Field Crops Res*. 116:268-277.

Karami M, Afyuni M, Khoshgoftarmanesh AH, Papritz A, Schulin R. 2009. Grain Zinc, Iron, and Copper Concentrations of Wheat

Grown in Central Iran and Their Relationships with Soil and Climate Variables. *J. Agric. Food Chem*. 57:10876-10882.

Lerner SE, Cogliatti M, Ponzio NR, Seghezzo ML, Molfese ER, Rogers W.J. 2004. Genetic variation for grain protein components and industrial quality of durum wheat cultivars sown in Argentina. *Journal of Cereal Science* 40: 161-166.

Majoul-Haddad T, Bancel E, Martre P, Triboui E, Branlard G. 2013. Effect of short heat shocks applied during grain development on wheat (*Triticum aestivum*L.) grain proteome. *J. Cereal Sci*. 57:486-495.

Moiraghi M, Vanzetti L, Pfluger L, Helguera M, Perez GT. Effect of high molecular weight glutenins and rye translocations on soft wheat flour cookie quality. 2013. *J Cereal Sci*. 58:424-430.

Morgonov A, Gomez-Becerra HF, Abugalieva A, Dzhunusova M, Yessimbekova M, Muminjanov H, Zelenskiy Y, Ozturk L, Cakmak I. 2007. Iron and zinc grain density in common wheat grown in Central Asia. *Euphytica*. 155:193-203.

Mortarini M, Perelman S, Miralles D. 2004. Calidad industrial del trigo: interacción genotipo x ambiente. *Actas del VI Congreso Nacional de trigo* 304-305. Bahia Blanca.

Osborne TB, 1907. The proteins of the wheat kernel. In: *Publications of the Carnegie Institution Washington*, vol. 84. Judd and Detweiler, Washington, DC.

Oury FX, Leenhardt F, Remesy C, Chanliaud E, Duperrier B, Balfourier F, Charmet G. 2006. Genetic variability and stability of grain magnesium, zinc and iron concentrations in bread wheat. *Eur J Agron*. 25:177-185.

Podio NS, Baroni MV, Badini RG, Inga M, Ostera HA, Cagnoni M, Gautier EA, Peral García P, Hoogewerff J, Wunderlin DA. 2013. Elemental and Isotopic Fingerprint of Argentinean Wheat.

Matching Soil, Water, and Crop Composition to Differentiate Provenance. *J. Agric. Food Chem.* 61:3763-3773.

Pomeranz Y, Peterson CJ, Mattern PJ. 1985. Hardness of winter wheats grown under widely different climatic conditions. *Cereal Chem.* 62:463-467.

Ram S, Singh RP. 2004. Solvent retention capacity of Indian wheats and their relationship with cookie-making quality. *Cereal Chem.* 81:128-133.

Rharrabti Y, Royo C, Villegas D, Aparicio N, García del Moral LF. 2003. Durum wheat quality in Mediterranean environments I. Quality expression under different zones, latitudes and water regimes across Spain. *Field Crop Res.* 80:123-131.

Shewry PR, Piironen V, Lampi AM, Edelmann M, Kariluoto S, Nurmi T, Fernandez-Orozco R, Ravel C, Charmet G, Andersson AM, A°man P, Boros D, Gebruers K, Dornez E, Courtin CM, Delcour JA, Rakszegi M, Bedo Z, Ward JL. 2010. The HEALTHGRAIN Wheat Diversity Screen: Effects of Genotype and Environment on Phytochemicals and Dietary Fiber Components. *J. Agric. Food Chem.* 58:9291-9298.

Tahir ISA, Nakata N. 2005. Remobilization of nitrogen and carbohydrate from stems of bread wheat in response to heat stress during grain filling. *J. Agr. Crop Sci.* 191:106-115.

Triboi E, Abad A, Michelena A, Lloveras J, Ollier JL, Daniel C. 2000. Environmental effects on the quality of two wheat genotypes. 1. quantitative and qualitative variation of storage proteins. *Eur. J Agron.* 13:47-64.

Vázquez D, Berger AG, Cuniberti M, Bainotti C, de Miranda MZ, Scheeren PL, Jobet C, Zúñiga J, Cabrera G, Verges R, Peña RJ. 2012. Influence of cultivar and environment on quality of Latin American wheats *Journal of Cereal Science* 56: 196-203.

Velu G, Ortiz-Monasterio I, Cakmak I, Hao Y, Singh RP. 2013. Biofortification strategies to increase grain zinc and iron concentrations in wheat. *Journal of Cereal Science.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2013.09.001> In Press, Corrected Proof.

Welch RM, Graham RD. 2004: Breeding for micronutrients in staple food crops from a human nutrition perspective. *J. Exp. Bot.* 55:353-364.

Zhao H, Guo B, Wei Y, Zhang B. 2012. Effects of Wheat Origin, Genotype, and Their Interaction on Multielement Fingerprints for Geographical Traceability. *J. Agric. Food Chem.* 60:10957-10962.

EFEECTO DEL PROCESO DE SECADO SOBRE LOS PIGMENTOS PRESENTES EN FRUTOS DE *CAPSICUM*

Wierna R.V.¹, Nazareno M.A.², Bonini N.A.¹

1: INIQUI -UNSa, Av. Bolivia 5150, Salta, Argentina.

2: CITSE- UNSE - Avda. Belgrano (S) 1912, Sgo. del Estero, Argentina.

bonini@exa.unsa.edu.ar

Resumen: Se estudió el efecto del secado por corriente de aire en condiciones moderadas de temperatura (45-50°C) sobre los frutos frescos de tres variedades rojas de *Capsicum* en distintos estadios de maduración. Se monitorearon los cambios en el contenido de carotenoides iniciales como así también la relación entre fracciones isocrómicas roja a amarilla (R/Y) y entre el contenido de capsantina a zeaxantina (caps/zeax). Se detectó la activación de procesos biosintéticos durante el secado de frutos inmaduros atribuido al incremento de la actividad de algunas enzimas. Se considera que estos frutos son metabólicamente activos debido a su alto contenido de humedad (80-85%). Contrariamente, no se observa una síntesis neta de carotenoides en los frutos que lograron la maduración completa con un contenido de humedad inferior al 70%. Es recomendable optimizar las condiciones de secado en estos frutos, evitando la degradación de pigmentos totales, y en consecuencia la de los de ambas fracciones isocrómicas y de pigmentos provitamínicos.

Palabras clave: pimientos para pimentón, color, carotenoides, secado, estadios de maduración.

Abstract: The effects of air-drying (T: 45-50°C) on raw pepper fruits of three varieties at different ripening stages were monitored on their initial carotenoids content, the red to yellow isochromic pigment ratio (R/Y) and the capsanthin-to-zeaxanthin ratio (caps/zeax). Carotenoid biosynthesis was observed during the drying steps of immature fruits. The fruits with high moisture content (85%) were metabolically active. Conversely, fully ripe fruits with low moisture content (< 70%) only showed a degradative oxidation process of carotenoid. It is advisable to optimize the drying process of fruits with low moisture content because degradation of both yellow and red isochromic fractions occurs; decreasing the total carotenoid content and provitamin A activity.

Keywords: pepper for paprika, colour parameters, carotenoids, air drying, ripening stages.

INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente los frutos rojos de pimiento para pimentón (*Capsicum annuum* L.) han sido empleados como fuente de pigmentos rojos para la tinción de alimentos. La capacidad colorante es una cualidad muy apreciada en estos frutos para la producción de pimentón. El cultivo de este fruto es una actividad importante para el desarrollo de la economía regional de los Valles Calchaqués; por este motivo la estación experimental Encalilla de INTA-Tucumán ha desarrollado tres variedades ("Encalilla Alargado", "Lautaro" y "Yokavil") adaptadas a la región y con características adecuadas para su comercialización. Entre estas características, el color ASTA, incorporado al Código Alimentario Argentino en 2008, es muy importante ya que se encuentra relacionado tanto con el contenido como con el perfil de carotenoides. Ambos parámetros están influenciados por el grado de maduración de los frutos al momento de la cosecha y por su evolución durante el secado.

Los carotenoides de *Capsicum*, por su color, se ordenan ya sea dentro de una fracción isocrómica roja (R) o de una amarilla (Y). Dentro de la fracción roja se incluyen a la capsantina y la capsorrubina; mientras que dentro de la fracción amarilla se identifican como mayoritarios al β -caroteno, la β -criptoxantina, la luteína, la zeaxantina y la violaxantina; siendo éstos últimos precursores biosintéticos de los pigmentos rojos. Desde el punto de vista nutricional, los frutos maduros presentan cantidades interesantes de β -caroteno y β -criptoxantina, sustancias estas con actividad provitamina A (Ball 2006, Collera-Zúñiga 2005, Howard 1994, Simpson 1983).

La biosíntesis total de carotenoides puede dividirse en dos procesos parciales (**Figura 1**): en la primera se sintetizan los pigmentos amarillos a partir de precursores tales como el fitoeno, fitoflueno y ζ -caroteno; mientras que la segunda etapa comprende la transformación de los pigmentos que conforman la fracción amarilla (Y) a pigmentos de la fracción roja (R); principalmente la capsantina y la capsorrubina. Hornero-Méndez et al. (2002, 2000) propusieron utilizar, además del contenido de carotenoides totales, las relaciones entre las concentraciones de carotenoides rojos a carotenoides amarillos (R/Y) y del contenido de capsantina y zeaxantina (caps/zeax) como los parámetros más apropiados para la selección, cultivo y caracterización de cultivares de pimiento para pimentón. La relación existente entre las concentraciones de capsantina a zeaxantina (caps/zeax) es también un parámetro que adquiere importancia al evaluar el grado de maduración de los frutos, ya que esta última representa un punto de ramificación en la biosíntesis de los carotenoides de *Capsicum* (Mínguez-Mosquera 1994b). Así, durante la maduración del fruto, las relaciones R/Y y la de las concentraciones de los pigmentos capsantina y zeaxantina, dan una idea del grado de avance en el proceso de biosíntesis (Wierna Sanchez Iturbe et al. 2013). Sobre esta base es posible emplear estas relaciones para monitorear la evolución de los pigmentos producidos durante diferentes procesamientos tales como el secado, la molienda o la conservación a la que se someten los frutos rojos de *Capsicum*.

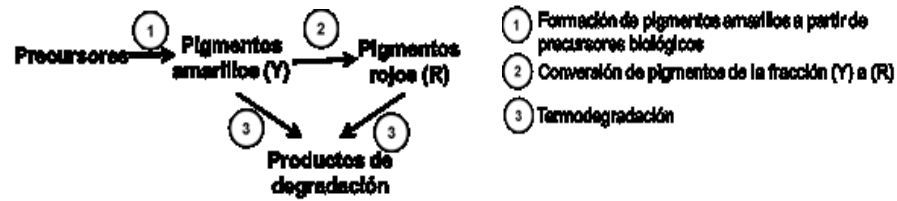


Figura 1: Mecanismos de biosíntesis parciales y de degradación durante el secado de frutos de *Capsicum*.

El proceso de secado de los frutos de *Capsicum* es importante llevarlo a cabo en condiciones moderadas de temperatura, a fin de minimizar los efectos de reacciones degradativas sobre el contenido de carotenoides. Por otra parte, el conocimiento de cómo afecta el secado, tanto al perfil como a la cantidad total de pigmentos de los frutos en distintos estadios de maduración, es importante para definir el momento más adecuado de la cosecha. En trabajos reportados en bibliografía (Mínguez-Mosquera y Hornero-Mendez, 1994b; Mínguez-Mosquera et al., 1993, 1994a) se observó, sobre frutos inmaduros de una variedad de pimiento (*Capsicum annuum* Cv. Bola), que durante el secado en la oscuridad de la estufa puede producirse la síntesis parcial de pigmentos, lo que fue atribuido al incremento en la actividad de algunas enzimas como consecuencia de la temperatura. Esto es, en frutos que no completaron la maduración, durante el proceso de secado puede promoverse la activación o inversión de rutas biosintéticas, provocando la conversión de los pigmentos existentes al momento de la cosecha en otros. Debido a estas transformaciones, es importante al momento del secado el grado de madurez alcanzado por el fruto. Así, durante

los primeros estadios de maduración, donde los frutos conservan elevados contenidos de humedad, éstos resultan metabólicamente activos; mientras que cuando los frutos se han deshidratado parcialmente en la planta, el secado en estufa produce mayoritariamente reacciones degradativas que involucran a una o a ambas fracciones isocrómicas; ya que los bajos niveles de humedad no permiten la actividad metabólica (Mínguez-Mosquera et al. 2000). De esta manera, de acuerdo a las condiciones metabólicas del fruto, el secado puede promover, ya sea la activación de alguna de las etapas biosintéticas de síntesis de carotenoides o la degradación parcial de los mismos (Figura 1). Estas etapas parciales de síntesis de carotenoides implican: a) la síntesis neta de carotenoides (síntesis de nuevos precursores así como la de compuestos intermediarios de la fracción amarilla), b) la transformación de los pigmentos amarillos preexistentes en pigmentos rojos (Mínguez-Mosquera 1994b, Mínguez-Mosquera et al. 2000)

El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto del secado en condiciones moderadas (45 a 50°C en corriente de aire), sobre los parámetros de color y el contenido de pigmentos en frutos de tres variedades de *Capsicum* rojos en distintos estadios de maduración; interpretando los cambios biosintéticos o degradativos que se producen a fin de definir las mejores condiciones de cosecha.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se recolectaron durante cuatro años consecutivos (2011-2014) muestras de las variedades Encalilla Alargado (EA), Yokavil (Yok) y Lautaro (L) en tres estadios sucesivos de maduración. Las muestras fueron conservadas en frío (3-4°C) y secadas en corriente de aire a 45-50°C dentro de las 48 h de su recolección. Los estadios de maduración seleccionados fueron: a) "**pintón**", que corresponde a frutos totalmente desarrollados en los cuales las áreas de coloración roja prevalecen sobre las verdes; b) "**turgente**" que corresponde a frutos maduros, totalmente rojos y con consistencia túrgida debido al contenido de humedad; y c) "**pansío**" correspondiente a frutos que alcanzaron el máximo grado de maduración y se encuentran parcialmente deshidratados en planta.

Para cada recolección se realizó un muestreo significativo y cuarteo. Para los frutos de cada etapa de maduración una porción de las muestras se guardó a -18°C (muestras frescas), y la otra se sometió a secado en estufa con circulación forzada de aire entre 45 y 50°C. De estas últimas, se separó la cáscara de las semillas y el pedúnculo, para, luego de secadas, molerlas hasta pasar por un tamiz de malla 40 obteniéndose así muestras homogéneas y representativas.

Determinaciones Cromatográficas sobre extractos saponificados de carotenoides

Se realizaron determinaciones cromatográficas (HPLC) en fase normal utilizando un cromatógrafo marca Konik Modelo KNK-500. Las separaciones cromatográficas se realizaron sobre

columna de SiO₂, (Zorbax RX-Sil de 25 cm x 4mm DI, 5µm) empleando como solvente de desarrollo un gradiente de hexano:acetato de etilo/isopropanol. La detección se realizó con un detector UV-Vis a una longitud de onda fija de 480 nm.

Las determinaciones cuantitativas se realizaron sobre extractos saponificados de las muestras utilizando como procedimiento de extracción y saponificación lo establecido en la técnica de la AOAC 970.64 (2006). Las extracciones se realizaron por duplicado para cada una de las muestra. En todos los casos la concentración de carotenoides se expresa por unidad de peso seco de muestra (g/kg m.s.).

Las curvas de calibración se prepararon, a partir de patrones de carotenoides, ya sea de origen comercial o purificados a partir de fuentes naturales, siguiendo la metodología propuesta por Rodríguez Amaya (1999). De esta manera, se utilizó un patrón comercial de β -caroteno (Merck), mientras que los carotenoides luteína, zeaxantina, β -criptoxantina y violaxantina, se obtuvieron a partir de extractos de pétalos de virreina (*Tagetes erecta* L.), frutos de papaya (*Carica papaya* L.) y pimiento amarillo (*Capsicum annuum lycopersiforme flavum*), respectivamente. La capsantina y la capsorrubina se obtuvieron de las propias muestras de *Capsicum*. Para algunas determinaciones se usó α -apo-8-carotenal (Sigma-Aldrich) como estándar interno.

Se prepararon soluciones de concentración conocida de los patrones purificados con las cuales se realizaron las curvas de calibración. La pureza de los patrones de carotenoides en todos los casos fue superior al 80% determinada a partir de las áreas en el cromatograma. La concentración de las soluciones patrones se calculó a partir de los coeficientes de extinción reportados en bibliografía (Britton et al. 2004, 1995) en el solvente de trabajo y fue corregida por su pureza cromatográfica. Las soluciones

concentradas de los carotenoides purificados fueron mantenidas en recipientes protegidos de la luz y a una temperatura de -18°C hasta el momento de trabajo.

Se calculó la actividad provitamina A como equivalentes de retinol (RE) de acuerdo a las directrices de WHO (1982) (Simpson 1983) (mg RE/kg m.s.). Para ello se tiene en cuenta que 1 mg retinol equivale a 6 mg β-caroteno y 12 mg β-criptoxantina, respectivamente.

Determinación de color extraíble (ASTA 20.1)

Se determinó el "color extraíble" en acetona, mediante el método ASTA 20.1 (1986), a partir de la absorbancia a 460 nm de extractos acetónicos de muestras de cáscara, secas y molidas (malla 40). Las unidades de color se calcularon según la expresión (1) y las determinaciones se realizaron por duplicado sobre muestras previamente homogeneizadas.

$$Color\ ASTA = 16.4 \frac{A_{460\text{ nm}}\text{solución acetona}}{m_{\text{muestra}}\text{ (g)}} I_f; \quad I_f = \frac{A_{465\text{ nm}}(\text{fil} - \text{NBS})}{A_{465\text{ nm}}(\text{fil} - \text{exp})} \quad (1)$$

Donde I_f es el factor de corrección determinado experimentalmente a 465 nm utilizando un filtro del NBS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Secado de frutos con alto contenido de humedad en cáscara (estadios pintón y turgente)

Se analizó el efecto del secado sobre los frutos inmaduros ("pintón" y "turgente") de las tres variedades, (Yok, EA y L). A través la concentración de los pigmentos de ambas fracciones isocrómicas, se monitoreó la activación durante el secado de alguna de las dos etapas de biosíntesis que conducen a un aumento en la relación entre pigmentos rojos y amarillos (R/Y).

De esta manera, el incremento en la concentración de los pigmentos de la fracción amarilla indica la activación de la primera etapa de síntesis; mientras que el aumento en el contenido de los pigmentos de la fracción roja implica la síntesis de éstos a expensas de los precursores amarillos ya existentes. En este proceso de biosíntesis tanto la zeaxantina como la violaxantina juegan roles importantes al ser puntos de ramificación en la biosíntesis de carotenoides (Hornero-Méndez et al. 2000).

En los frutos pintones de la variedad EA (campaña 2013) se observaron, luego del secado, incrementos en la concentración de los carotenoides de las dos fracciones isocrómicas lo que provoca el aumento en el contenido total de pigmentos (g carotenoides/kg); esto último, debido a que durante el secado se produjo el aumento de la concentración de todos los pigmentos individuales. En la **Figura 2 A** puede observarse que el contenido de pigmentos que conforman la fracción amarilla (Y) aumentó en un 49% (**Tabla 1**), mientras que la suma de pigmentos de la fracción roja (R) se incrementó sólo en un 19%. Esta diferencia entre pigmentos Rojos y Amarillos se justifica por una mayor activación de la primera etapa de biosíntesis, que conduce a una

acumulación de pigmentos amarillos con la consecuente disminución de la relación R/Y. Esto último, acompañado de la caída de la relación caps/zeax, corrobora la biosíntesis de pigmentos amarillos durante el secado. Como consecuencia del incremento diferencial de la concentración de los pigmentos amarillos provitamínicos (β -caroteno y β -criptoxantina) se produce, durante el secado un aumento del 22% en la actividad provitamina A.

Por otra parte, la concentración de violaxantina, muestra un aumento del 170% (**Figuras 2 A**) respecto del valor observado sobre la muestra fresca. Este pigmento es sintetizado por epoxidación de la zeaxantina; siendo, además, un precursor en la biosíntesis de la capsorrubina (Hornero-Méndez et al. 2000).

En lo que se refiere a los frutos turgentes de esta variedad, si bien el secado no provoca un aumento en la concentración de pigmentos totales (**Tabla 1**), sí se observa un incremento de la concentración de violaxantina, llevando el contenido de este pigmento hasta valores un 80% mayores que el determinado sobre las muestras frescas (**Figura 2 B**). En este caso, el aumento en la concentración de violaxantina, es acompañado por una disminución del resto de los pigmentos de la fracción amarilla y de una pequeña porción de la capsantina en la fracción roja. Esto último, como consecuencia de la aparición de procesos de degradación oxidativa.

Tabla 1: Variación del contenido de carotenoides durante el secado de frutos de *Capsicum* Cv "Encalilla Alargado" (EA) con distinto grado de maduración. Los resultados se expresan sobre base seca (m.s.). \pm representa la desviación estándar y los años de cosecha se encuentran entre paréntesis.

	EA ₍₂₀₁₃₎		EA ₍₂₀₁₃₎		EA ₍₂₀₁₄₎	
	Frescas	secas	frescas	secas	frescas	secas
% H en cáscara	85% (pintón)		83% (turgente)		70% (pansío)	
Color ASTA	147 \pm 2		292 \pm 0.2		412 \pm 5	
g carot./kg m.s.	2.80 \pm 0.2	3.80 \pm 0.1	6.91 \pm 0.	6.70 \pm 0.1	10.9 \pm 0.5	10.6 \pm 0.4
	0	2.39 \pm 0.0	3	4.02 \pm 0.0		
	1.61 \pm 0.0	5	3.95 \pm 0.	5	6.2 \pm 0.3	6.0 \pm 0.3
Y (g/kg m.s.)	8		1			
	1.18 \pm 0.1		2.96 \pm 0.	2.68 \pm 0.0		
R (g/kg m.s.)	4	1.40 \pm 0.1	2	4	4.6 \pm 0.2	4.7 \pm 0.2
					308.2 \pm 6.	283.6 \pm 1.
mgRE/kg m.s.	103 \pm 1.42	126 \pm 2	219 \pm 8	194 \pm 2	7	0
	2.84 \pm 0.6		2.61 \pm 0.	2.43 \pm 0.0		
caps/zeax	9	2.2 \pm 0.2	2	5	2.4 \pm 0.2	3.0 \pm 0.2
	0.73 \pm 0.1	0.59 \pm 0.0	0.75 \pm 0.	0.66 \pm 0.0		0.80 \pm 0.0
R/Y	2	5	1	2	0.7 \pm 0.1	7

Si se tiene en cuenta que en los frutos "turgentes" el proceso de maduración ya avanzó en la producción de la mayoría de los pigmentos amarillos, la primera etapa de biosíntesis se encuentra agotada por lo que no aporta mayoritariamente a la formación de nuevos pigmentos sino a su transformación en violaxantina. Es posible entonces proponer la síntesis de violaxantina, a partir de los pigmentos existentes, por activación o inversión de los mecanismos biosintéticos, sin que se produzca una modificación importante en el balance de carotenoides totales.

Un comportamiento semejante fue observado sobre los frutos en los estadios "pintón" y "turgente" de las otras dos variedades de *Capsicum*. En el caso particular del secado de los frutos "turgentes" de la variedad Lautaro (cosecha 2012) también se observó un incremento en la actividad provitamina A con valores

ligeramente inferiores de las relaciones R/Y y caps/zeax (**Tabla 2** y **Figura 2 C**).

Tabla 2: Variación del contenido de carotenoides durante el secado de frutos de las variedades Yokavil (Yok) y Lautaro (L) con distinto grado de maduración. Los resultados se expresan sobre base seca (m.s.). \pm representa la desviación estándar y los años de cosecha se encuentran entre paréntesis.

	L(2012)		Yok(2013)	
	Frescas	frescas	Frescas	Frescas
% H en cáscara	77% (turgente)		57% (pansío)	
Color ASTA	293 \pm 2		323 \pm 1	
g carot./kg m.s.	5.90 \pm 0.09	5.68 \pm 0.20	7.8 \pm 0.3	6.38 \pm 0.07
Y (g/kg m.s.)	3.68 \pm 0.07	3.72 \pm 0.16	4.8 \pm 0.1	3.82 \pm 0.06
R (g/kg m.s.)	2.64 \pm 0.02	1.96 \pm 0.03	3.0 \pm 0.1	2.57 \pm 0.01
mgRE/kg (m.s.)	189 \pm 4	205 \pm 7	250 \pm 11	209 \pm 3
caps/zeax	1.75 \pm 0.04	1.44 \pm 0.05	2.1 \pm 0.18	2.37 \pm 0.02
R/Y	0.60 \pm 0.02	0.53 \pm 0.03	0.6 \pm 0.04	0.67 \pm 0.01

Después del secado de estas muestras, se observaron incrementos en el contenido de los pigmentos provitamínicos y un descenso del 25% en el contenido de violaxantina y de 10% en capsantina sin una modificación en el contenido de carotenoides totales.

Los comportamientos descritos resultan concordantes con las observaciones realizadas por Mínguez-Mosquera et al. (1994b) durante el secado de frutos que aún no completaron la

maduración. Estos autores proponen que durante el proceso de secado se activa la síntesis de nuevos pigmentos a través de las mismas rutas metabólicas que operan durante la síntesis normal.

Secado de frutos con bajo contenido de humedad en cáscara (estadio pansío).

En el estadio pansío, las muestras han sufrido un proceso de deshidratación previo en la planta. En ellos los bajos niveles de humedad (<75%) no permiten la actividad metabólica (Mínguez-Mosquera et al., 2000) para la biosíntesis de nuevos pigmentos; por lo que, durante el secado en estufa, prevalecen los procesos degradativos sobre los pigmentos de ambas fracciones isocrómicas (paso 3 en **Figura 1**).

Durante el secado de las muestras pansías se determinó una modificación en el contenido de los pigmentos de ambas fracciones. En general, se observó que la fracción amarilla (Y) disminuye obteniéndose un producto con una relación de pigmentos rojos a amarillos mayor que la determinada sobre el fruto fresco; lo que afecta la actividad provitamina A (ver **Tablas 1 y 2**). Esto demuestra que los pigmentos que componen la fracción amarilla presentan una mayor labilidad que los pigmentos de la fracción roja que resultan más estables. La menor estabilidad de los pigmentos amarillos fue atribuida en bibliografía a que los mismos, por su estructura alcohólica, se encuentran esterificados por ácidos grasos insaturados (con dos dobles enlaces), lo que los hace

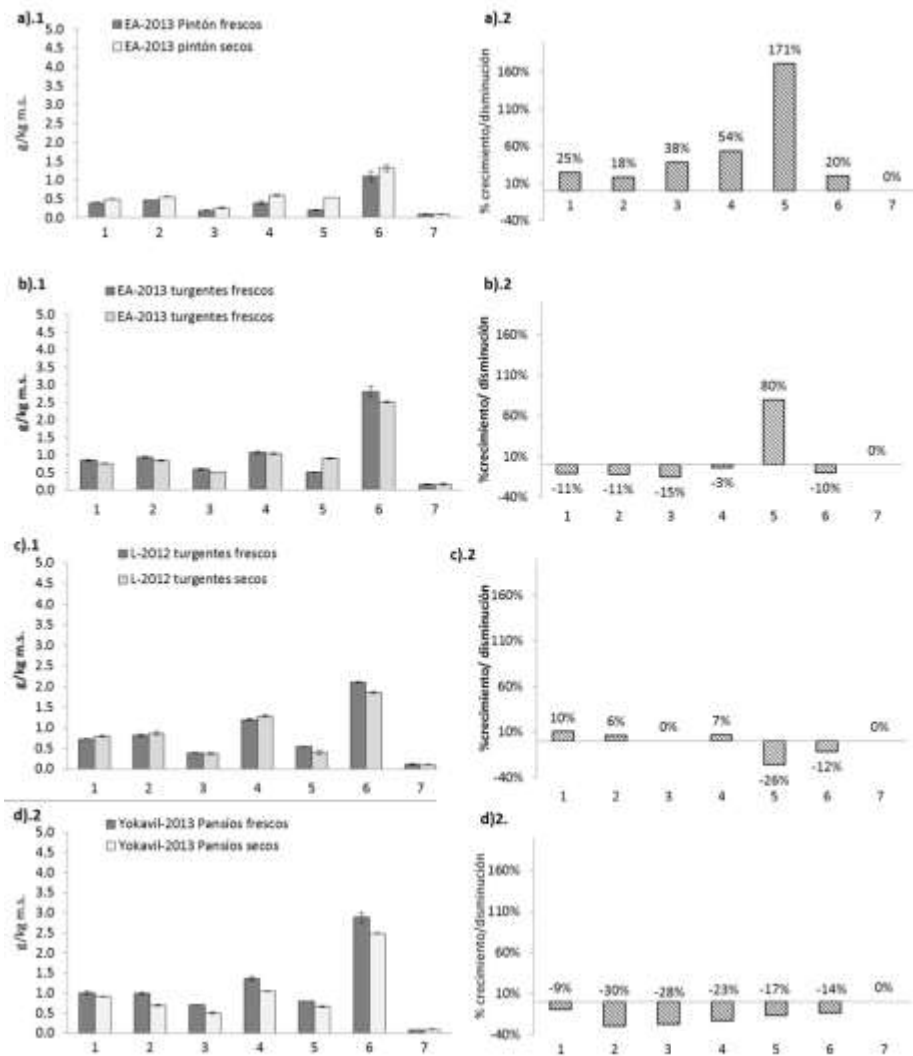


Figura 2: Contenidos individuales de pigmentos carotenoides y porcentaje de variación (incremento o disminución) como

consecuencia del secado de frutos pintones, turgentes y pansíos. Se indican la variedad y el año de cosecha. (Pigmentos amarillos (Y): **1.**β-caroteno, **2.**β-criptoxantina, **3.**eq. de zeaxantina, **4.**zeaxantina y **5.**violaxantina; Pigmentos rojos (R): **6.**capsantina, **7.**capsorrubina).

más susceptibles a la oxidación (Mínguez-Mosquera y Hornero-Mendez, 1994a) aunque no debería descartarse la mayor estabilidad de los pigmentos rojos al encontrarse ya parcialmente oxidados.

En general puede concluirse que el proceso de secado, a 45-50°C en aire, de todas las muestras pansíos correspondientes a las tres variedades de *Capsicum*, condujo a una ligera disminución del contenido total de carotenoides y a un aumento de la relación R/Y con la consecuente disminución de la actividad provitamina A.

Los comportamientos generales descritos muestran variaciones provocadas fundamentalmente por la falta de precisión en la selección de los frutos que conforman una muestra, en las diferentes etapas de madurez al momento de la cosecha. Así, por ejemplo, en muestras de frutos "pansíos" de la variedad EA (campaña 2014) no se observó una disminución significativa en el contenido total de carotenoides. En ellos las muestras secas retuvieron el 96% de los pigmentos de la fracción amarilla (Y) (**Tabla 1**), con una pérdida de actividad provitamina A de sólo el 8%. Sobre estos frutos, luego del secado, se observó un incremento de la concentración de violaxantina (0.64 mmol/kg) a expensas de los pigmentos amarillos (**Figura 2 E**); mientras que la fracción isocrómica roja, conservó los contenidos tanto de capsantina como de capsorrubina. Sin embargo, pese a las diferencias cuantitativas observadas el comportamiento general

de la muestra sigue lo descrito para las muestras de cosechas anteriores.

En forma semejante, los frutos pansíos de Yokavil (campaña 2013) luego del secado mostraron una disminución de 7.8 a 6.4 g/kg en el contenido total de pigmentos (**Tabla 2**), disminución que es usual bajo condiciones moderadas de secado. En ellos, no se observó la biosíntesis de nuevos pigmentos, sino su degradación parcial (**Figura 2 D**); con mayor proporción de aquellos de la fracción amarilla (20%) frente a los de la fracción roja (15%); dando lugar a un 85% de conservación de la actividad provitamina A.

Como se planteó anteriormente el comportamiento de los frutos durante el proceso de secado, en lo que al contenido de carotenoides se refiere, resultó fuertemente dependiente del grado de madurez al momento de la cosecha. Así, en los frutos en el estadio "pintón", en los cuales no se ha completado la primera etapa de biosíntesis, el proceso de secado conduce a un aumento considerable de la concentración de carotenoides totales aunque ésta no llega a alcanzar la concentración total desarrollada en los frutos recogidos en estadios de maduración superiores. Sobre estos frutos, como consecuencia de la activación de la primera etapa del proceso de biosíntesis, se observa una mejora de su actividad provitamina A, a expensas de una pérdida en la relación R/Y.

En los frutos "turgentes" el secado no modifica de una manera importante el contenido total de carotenoides, aunque éste resulta ser considerablemente inferior al observado sobre los frutos "pansíos". En este estadio de madurez la primera etapa del proceso biosintético se ve disminuida y los precursores amarillos se oxidan generando los carotenoides oxidados, capsantina y

capsorubina, a través de la segunda etapa biosintética (paso 2 – **Figura 1**) y aumentando la relación R/Y.

En los frutos recolectados en el estadio "pansío", el bajo contenido de agua inhibe los procesos metabólicos por lo que prevalecen los procesos degradativos (paso 3 **Figura 1**). Sobre estos frutos resulta fundamental el control de la temperatura de secado para evitar la pérdida de pigmentos.

En el momento de la cosecha la selección de los frutos según sus estadios de maduración se realiza en forma manual en base a su apariencia y textura. Es común que durante la recolección se cosechen frutos que aún no han alcanzado su máximo grado de madurez ("pintones" y "turgentes"), lo que disminuye la calidad del producto luego del proceso de secado. Lo anteriormente expuesto resulta de importancia para definir el momento óptimo de la cosecha, concluyéndose que la misma es conveniente realizarla sobre frutos en su estadio "pansío" ya que sólo en ellos se logra el máximo contenido de pigmentos con la mejor relación de pigmentos rojos a amarillos. Sobre ellos el proceso de secado sólo produce una pequeña degradación si se realiza en condiciones adecuadas de temperatura.

CONCLUSIONES

El proceso de degradación de pigmentos tiene lugar cuando los contenidos de humedad en cáscara no permiten la actividad metabólica. Los frutos "pansíos", con bajo contenido de humedad (< 70%) por haberse deshidratado en la planta, resultan metabólicamente inactivos y el secado tiene efectos negativos sobre ambas fracciones isocrómicas y sobre el contenido total de carotenoides debido a reacciones degradativas, por lo que resulta aconsejable optimizar el proceso de secado.

En los frutos con alto contenido de humedad ("pintón" y "turgente"), metabólicamente activos, las condiciones moderadas de secado activan mecanismos biosintéticos que provocan la modificación del contenido de pigmentos dentro las distintas fracciones isocrómicas. Así, en los frutos "pintones" se activa preferentemente la primera etapa del proceso de biosíntesis de carotenoides provocando un aumento de la concentración total y una disminución de la relación R/Y. Por su parte, en los frutos "turgentes" si bien no se observa un aumento del contenido total de carotenoides se produce una disminución de la relación R/Y, al activarse preferentemente la etapa de formación de pigmentos rojos por oxidación de los precursores amarillos.

Los frutos "pansíos", con contenidos de humedad menores al 75%, son los que alcanzan la mayor concentración de carotenoides. Sobre ellos el secado produce la degradación de sólo una pequeña fracción de los carotenoides, con un incremento de la relación R/Y. Al mismo tiempo, el secado lento por corriente de aire y a temperaturas moderadas (45-50°C)

brinda la posibilidad de activar procesos biosintéticos en aquellos frutos mal seleccionados como "pansíos" que mantienen contenidos de humedad altos, lo que los hace metabólicamente activos.

BIBLIOGRAFÍA

- AOAC International. (2006). Carotenes and xanthophylls in dried plant materials and mixed feeds. In *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*.
- ASTA (1986). Extractable color in Capsicums and their oleoresins. In *Official Analytical Methods of the American Spice Trade Association* (2nd ed., pp. 43–44). Englewood Cliffs, NJ.
- Ball, G. F. M. (2006). Vitamin A: Retinoids and the Provitamin A Carotenoids. In G. F. M. Ball (Ed.), *Vitamins in Food. Analysis, Bioavailability, and Stability* (pp. 39–92). Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.
- Britton, G. (1995). UV/Visible Spectroscopy. In G. Britton, S. Liaaen-Jensen, & H. Pfander (Eds.), *Carotenoids. Volume 1B: Spectroscopy* (first Edit., pp. 13–62). Basel, Boston, Berlin: Birkhäuser Verlag.
- Britton, G., Liaaen-Jensen, S., & Pfander, H. (Eds.). (2004). *Carotenoids Handbook* (first Edit.). Basel, Boston, Berlin: Birkhäuser Verlag.
- Collera-Zúñiga, O., García Jiménez, F., & Meléndez Gordillo, R. (2005). Comparative study of carotenoid composition in three mexican varieties of *Capsicum annum* L. *Food Chemistry*, 90(1-2): 109–114.

- Hornero-Méndez, D., Costa-García, J., & Mínguez-Mosquera, M. I. (2002). Characterization of Carotenoid High-Producing *Capsicum annuum* Cultivars Selected for Paprika Production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 5711–5716.
- Hornero-Méndez, D., Gómez-Ladrón De Guevara, R., & Mínguez-Mosquera, M. I. (2000). Carotenoid biosynthesis changes in five red pepper (*Capsicum annuum* L.) cultivars during ripening. Cultivar selection for breeding. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(9): 3857–64.
- Howard, L. R., Smith, R. T., Wagner, A. B., Villalon, B., & Burns, E. E. (1994). Provitamin A and Ascorbic Acid Content of Fresh Pepper Cultivars (*Capsicum annuum*) and Processed Jalapeños. *Journal of Food Science*, 59(2): 362–365.
- Kimura, M., & Rodríguez-Amaya, D. B. (2002). A scheme for obtaining standards and HPLC quantification of leafy vegetable carotenoids. *Food Chemistry*, 78(3): 389–398.
- Mínguez-Mosquera, M. I., & Hornero-Mendez, D. (1994a). Changes in Carotenoid Esterification during the Fruit Ripening of *Capsicum annuum* Cv. Bola. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(3): 640–644.
- Mínguez-Mosquera, M. I., & Hornero-Mendez, D. (1994b). Formation and transformation of pigments during the fruit ripening of *Capsicum annuum* Cv. Bola and Agridulce. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42: 38–44.
- Mínguez-Mosquera, M. I., Jarén-Galán, M., & Garrido-Fernández, J. (1993). Effect of Processing of Paprika on the Main Carotenes and Esterified Xanthophylls Present in the Fresh Fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41: 2120–2124.
- Mínguez-Mosquera, M. I., Jarén-Galán, M., & Garrido-Fernández, J. (1994a). Competition between the Processes of Biosynthesis and Degradation of Carotenoids during the Drying of Peppers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(3): 645–648.
- Mínguez-Mosquera, M. I., Jarén-Galán, M., & Garrido-Fernández, J. (1994b). Influence of the Industrial Drying Processes of Pepper Fruits (*Capsicum annuum* Cv. Bola) for Paprika on the Carotenoid Content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(3): 1190–1193.
- Mínguez-Mosquera, M. I., Pérez-Gálvez, A., & Garrido-Fernández, J. (2000). Carotenoid Content of the Varieties Jaranda and Jariza (*Capsicum annuum* L.) and Response during the Industrial Slow Drying and Grinding Steps in Paprika Processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 2972–2976.
- Rodríguez-Amaya, D. B. (1999). A guide for carotenoid analysis in foods (first Edit.). Washington, DC: International Life Sciences Institute Press.
- Simpson, K. L. (1983). Relative value of carotenoids as precursors of vitamin A. *Proceeding of the Nutrition Society*, 42: 7–17.
- Wierna Sanchez Iturbe, R. V., Nazareno, M. A., & Bonini, N. A. (2013). Variación en la cantidad y el perfil de carotenoides en tres variedades de *Capsicum annuum* de la región de los Valles Calchaquíes. Efecto de la madurez del fruto. In XIV Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CYTAL). Rosario, Santa Fe, Argentina.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue realizado con el financiamiento del INIQUI-CONICET y de la Facultad de Ciencias Exactas de la UNSa. Los autores agradecen a personal de la Estación Experimental de INTA - Encalilla Tucumán por la provisión de los frutos durante los años 2011 a 2014.

EFEECTO DE LA COMPOSICIÓN Y DE LA PRESENCIA DE *ZYGOSACCHAROMYCES BAILII* SOBRE LA ESTABILIDAD DE EMULSIONES ACEITE EN AGUA.

Zalazar Aldana L.^{1,2}, Gliemmo Maria F.^{1,2}, Campos Carmen A.^{1,2}

1: Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Intendente Güiraldes s/n, Ciudad Universitaria, Buenos Aires, Argentina.

2: CONICET, Buenos Aires, Argentina.

aldizalazar@hotmail.com

Resumen: El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de distintos ingredientes y de la inoculación con *Zygosaccharomyces bailii* NRRL 7256 sobre la estabilidad de emulsiones de pH 3,5. Para tal fin se formularon sistemas en caldo Sabouraud con diferentes concentraciones de goma xántica, goma guar, Tween 20 y 3,00% p/p de NaCl. Se ajustó el pH con ácido cítrico. Luego, se adicionaron distintos niveles de aceite de maíz y se emulsificaron. Parte de los sistemas se inocularon con 10^4 UFC/g de *Z. bailii*. Todas las emulsiones se almacenaron a 25°C por 7 días. Para evaluar su estabilidad física se determinó la distribución de tamaño de gota por difracción de luz en un analizador Mastersizer al tiempo inicial y a los 7 días. Se empleó el diámetro de Sauter ($D_{3,2}$) como una medida del diámetro promedio volumen-superficie de las gotas y el diámetro de Brouckere ($D_{4,3}$), como una medida de la desestabilización. El desarrollo de *Z. bailii* se evaluó por recuento de viables en placa. Se verificó que el uso de goma guar en

reemplazo de goma xántica, la incorporación de NaCl y en líneas generales la inoculación disminuyen la estabilidad de las emulsiones estudiadas.

Palabras Clave: *Z. bailii*, emulsiones, goma xántica, Tween 20, cloruro de sodio.

Abstract: The objective of the present work was to evaluate the effect of several ingredients and the inoculation with *Zygosaccharomyces bailii* NRRL 7256 on the stability of emulsions with pH 3.5. For that purpose, systems containing Sabouraud broth and different concentrations of xanthan gum, guar gum, Tween 20 and NaCl (3.00% w/w) were formulated. The pH was adjusted with citric acid. Then, different levels of corn oil were added and the systems were emulsified. Half of the systems were inoculated with *Z. bailii* (10^4 CFU/g). All the emulsions were stored at 25°C for 7 days. The physical stability was evaluated through the distribution of drops performed by light scattering with a Mastersizer Analyzer. The evaluation was made at initial time and after 7 days. The Sauter diameter ($D_{3,2}$) was used as a measure of the oil drop average diameter volume/surface and the Brouckere ($D_{4,3}$) diameter as a measure of the degree of desestabilization. *Z. bailii* growth was evaluated by plate count. It was verified that the use of guar gum instead of xanthan gum, the incorporation of NaCl and in general the inoculation decrease the stability of the emulsions.

Keywords: *Z. bailii*, emulsions, xanthan gum, Tween 20, sodium chloride.

INTRODUCCIÓN

Las emulsiones aceite en agua son la base de muchos alimentos naturales y procesados, entre los cuales se pueden citar: mayonesa, aderezos para ensaladas, leche, helados, etc. Debido a la importancia de estos productos, las emulsiones alimenticias representan un área de gran relevancia dentro de la industria de alimentos (Sikora *et al.* 2008).

Una de las propiedades más importantes de una emulsión es su estabilidad. Esta no sólo incluye los aspectos físicos que controlan principalmente la separación de fases, sino también químicos (oxidación, hidrólisis) y microbiológicos. De acuerdo con Kurtzman *et al.* (1971) *Zygosaccharomyces bailii* es la levadura predominante en los productos almacenados que evidenciaron "off-flavors". En sistemas emulsionados, el crecimiento de *Z. bailii* es influenciado por la cantidad de aceite y la presencia de estabilizantes (Castro *et al.* 2003). Por otra parte, el desarrollo microbiano puede promover la inestabilidad física de la emulsión debido a la interacción de los microorganismos con las gotas de aceite (Li *et al.* 2001).

La formulación de emulsiones se basa en conocer, lo más profundo posible, sus componentes básicos y sus interrelaciones: la fase oleosa, la fase acuosa, los emulsionantes, como por ejemplo el Tween 20 y los estabilizantes, como la goma guar y goma xántica (Muñoz *et al.* 2007). La estabilidad física de una emulsión está condicionada por el resultado de un balance complejo de fuerzas de atracción y repulsión entre las gotas de la fase dispersa, limitado por las condiciones fisicoquímicas del medio continuo (Evans y Wennerström 1994). En algunos casos,

con el objetivo de disminuir la actividad de agua y para dar sabor se incorpora cloruro de sodio.

En base a lo comentado, el presente estudio está orientado a evaluar el efecto de la composición del sistema, utilizando diferentes concentraciones de goma xántica (0,25 y 1,00% m/m), aceite de maíz (11,0 y 44,0% m/m) y Tween 20 (1,0 y 2,0% m/m), goma guar (0,0 y 1,0% m/m), cloruro de sodio (0,0 y 3,0% m/m) y del inóculo de *Z. bailii* NRRL 7256, sobre la estabilidad física de emulsiones ácidas de pH 3,50.

MATERIALES Y METODOS

Materiales

Los medios utilizados para el cultivo, la preparación de los sistemas y el recuento de microorganismos fueron: caldo y agar Sabouraud (Biokar, Francia). El microorganismo empleado fue *Z. bailii* NRRL 7256. La goma xántica, goma guar y el aceite de maíz fueron de grado alimenticio. El Tween 20, el cloruro de sodio y el ácido cítrico fueron de grado analítico (Anedra, Argentina).

Preparación de los sistemas modelo

Se formularon sistemas emulsionados en caldo Sabouraud con diferentes concentraciones de Tween 20, goma xántica, cloruro de sodio, goma guar y aceite de maíz, como se muestra en la **Tabla 1**, por pesada directa de los distintos ingredientes para obtener 200,0 g de cada sistema. Todos los ingredientes, a excepción del aceite, se suspendieron en agua destilada y se colocaron en frascos de vidrio de base circular. La goma xántica y la goma guar se dispersaron en forma de lluvia y se dejaron con

agitación durante 24 horas para su hidratación. Los sistemas así constituidos fueron esterilizados en autoclave a 100°C durante 30 minutos y el pH fue ajustado a 3,50 por agregado aséptico de una solución de ácido cítrico (25 % m/v). El pH se midió con un electrodo de vidrio acoplado a un pHmetro Fisher (USA). Para la elaboración de las emulsiones, se agregó la cantidad correspondiente de aceite en condiciones de esterilidad y se realizó la emulsificación con un homogeneizador de alta velocidad (Ultra turrax, IKA, Alemania), durante 1 minuto a 13500 rpm para formar la emulsión y luego 3 minutos a 24000 rpm para reducir el tamaño de gota.

Preparación del inóculo, inoculación y almacenamiento

Se elaboró un inóculo transfiriendo un ansada de la cepa pura, almacenada sobre agar Sabouraud, a caldo Sabouraud. Para que el cultivo alcance la fase estacionaria, el caldo inoculado se incubó a 25°C ± 1°C durante 24 hs.

Parte de los sistemas se inocularon con 10⁴ UFC/g de *Z. bailii*. Luego, alícuotas de 30 g de cada uno de los sistemas fueron colocados por duplicado en frascos de vidrio estériles los cuales se almacenaron en una cámara de temperatura constante a 25°C ± 1°C por 7 días. El desarrollo de *Z. bailii* se evaluó por recuento de viables en placa con agar Sabouraud. Las placas se incubaron a 25°C ± 1°C y luego de 5 días se llevaron a cabo los recuentos. Al cabo de 7 días, la población de *Z. bailii* fue de aproximadamente 10⁷ UFC/g en todos los sistemas inoculados.

Medición del tamaño de gota

Se tomaron alícuotas de 1,0 ml de las emulsiones sin inocular e inoculadas luego del 1° y 7° día de realizar la emulsión y se determinó el tamaño de gota de las emulsiones por dispersión de luz utilizando un Mastersizer 2000 equipado con una unidad de dispersión Hydro 2000 MU, de Malvern Instruments Ltd. (Reino unido). La velocidad de la bomba fue colocada en 1800 RPM. Se utilizó el índice de refracción (RI) del aceite de maíz (1.473) y su parámetro de absorción (0.001). El equipo utiliza dispersión estática de luz, la cual mide la intensidad por medio de un arreglo de detectores ubicados a diferentes ángulos. El patrón de dispersión obtenido se envía a la computadora donde el software del equipo realiza un análisis y predice el tamaño por medio del uso de la teoría de Mie (Kippax 2005). El tamaño de gota se informa como el diámetro promedio de la relación volumen-superficie o diámetro de Sauter ($D_{3,2} = \sum n_i d_i^3 / \sum n_i d_i^2$) y el diámetro de volumen medio equivalente o diámetro De Broukere ($D_{4,3} = \sum n_i d_i^4 / \sum n_i d_i^3$), donde n_i es el número de gotas de diámetro d_i (Leroux *et al.* 2003). El parámetro $D_{3,2}$ brinda una medida del diámetro promedio en donde se encuentran la mayoría de las gotas y $D_{4,3}$ está relacionado con cambios en el tamaño de partícula que involucran procesos de desestabilización (Camino *et al.* 2009).

Los tamaños de gota se presentan como el promedio y la desviación estándar de 10 lecturas hechas en dos muestras preparadas de forma independiente.

Tabla 1: Concentración de goma xántica, Tween 20 y aceite de maíz en los sistemas modelo.

Sistemas	Aceite (% m/m)	Goma xántica (% m/m)	Tween (% m/m)	Goma guar (% m/m)	NaCl (% m/m)
A	11,0	0,25	0,0	0,0	0,0
B	11,0	1,00	0,0	0,0	0,0
C	44,0	0,25	0,0	0,0	0,0
D	44,0	1,00	0,0	0,0	0,0
E	11,0	0,25	1,0	0,0	0,0
F	11,0	0,25	2,0	0,0	0,0
G	44,0	0,25	1,0	0,0	0,0
H	44,0	0,25	2,0	0,0	0,0
I	44,0	0,00	0,0	1,0	0,0
J	44,0	0,25	0,0	0,0	3,0
K	44,0	1,00	0,0	0,0	3,0

Análisis de datos

Todas las determinaciones se realizaron por duplicado y cada valor representa el promedio de al menos dos mediciones de cada tratamiento. El error estándar fue siempre inferior al 10%. Para establecer el efecto de la presencia de los distintos ingredientes sobre el tamaño de gota de las emulsiones y su estabilidad, a los parámetros $D_{3,2}$ y $D_{4,3}$ obtenidos se les aplicó un análisis de la varianza (ANOVA). Las comparaciones entre tratamientos se efectuaron utilizando la prueba de Tukey. Los análisis estadísticos se realizaron mediante el empleo del programa Statgraphics® (Statgraphics Centurion para Windows 7, 2005, USA). En todos los casos, se consideraron significativas aquellas pruebas con $p < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSION

Distribución del tamaño de partícula

En la **Figura 1** se muestran, a modo de ejemplo, la distribución del tamaño de gota de las emulsiones obtenidas con 0,25 y 1% m/m de goma xántica y 11% m/m aceite de maíz. Se pudo observar que en todos los casos las distribuciones fueron monomodales, por lo cual, hay solo una población mayoritaria de partícula en los tamaños de gota alcanzados.

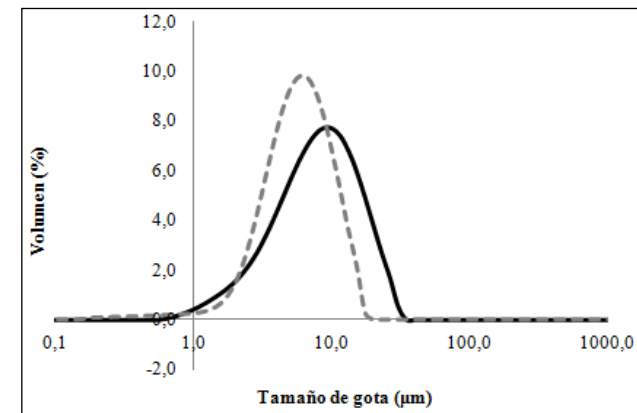


Figura 1: Distribución por volumen del tamaño de gota de las emulsiones sin inocular A y B. (—) 0,25% m/m de goma xántica y 11% m/m de aceite de maíz, (---) 1% m/m de goma xántica y 11% m/m de aceite de maíz.

Es deseable obtener gotas pequeñas y monodispersas de modo de tener una emulsión más estable. Las emulsiones no evidenciaron visualmente cremado durante el transcurso del ensayo.

Efecto del contenido de aceite, de goma xántica y de Tween 20 sobre el tamaño de gota de las emulsiones

Se determinó el efecto de la cantidad de goma xántica, de Tween 20 y de aceite de maíz en la distribución del tamaño de partícula de las emulsiones realizadas al inicio del ensayo. Los diámetros $D_{3,2}$ se muestran en las **Figuras 2 y 3**. Se observó un aumento significativo del tamaño de gota cuando se incremento el nivel de aceite tanto en presencia de goma xántica (**Figura 2**) como de Tween 20 (**Figura 3**). Esto era lo esperado ya que al aumentar la fase aceite sería necesaria una mayor cantidad de estabilizante y emulsionante para estabilizar las gotas de aceite.

El agregado de goma xántica disminuyó significativamente el $D_{3,2}$ sólo en presencia de 11,00% m/m de aceite (**Figura 2**). La misma tendencia se observó al agregar Tween 20 a las emulsiones con 0,25% m/m de goma xántica (**Figura 3**), esto era lo esperado por el efecto emulsionante de este compuesto y ha sido previamente reportado por Castro et al. (2009).

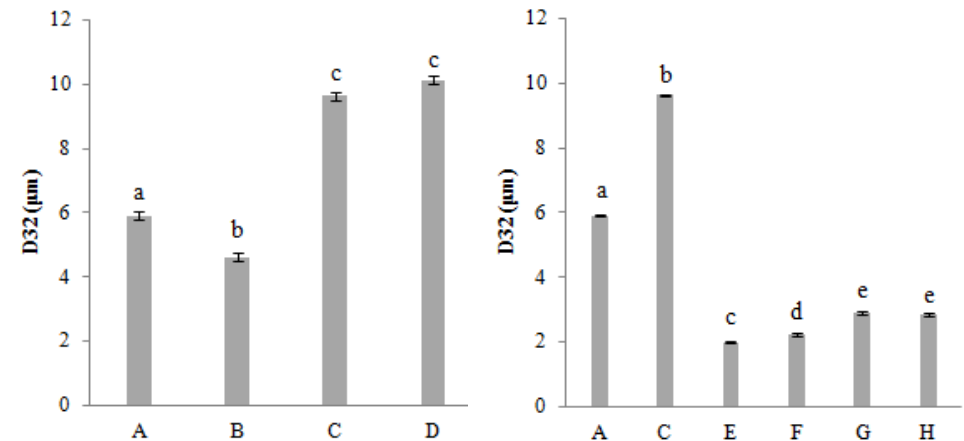


Figura 2: Efecto de la concentración de goma xántica y de aceite sobre el diámetros medio de Sauter ($D_{3,2}$) de las emulsiones A-D, sin inocular, medidas a las 24 hs. Las barras marcadas con la misma letra no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$, test de Tukey). A: 0,25% p/p goma xántica y 11% m/m aceite, B: 1% m/m goma xántica y 11% m/m aceite, C: 0,25% m/m goma xántica y 44% m/m aceite y D: 1,00% m/m goma xántica y 44 % m/m aceite.

Figura 3: Efecto de la concentración de Tween 20 y de aceite sobre el diámetros medio de Sauter ($D_{3,2}$) de las emulsiones A, C, E-H, sin inocular, medidas a las 24 hs. Las barras marcadas con la misma letra no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$, test de Tukey). A: 11% m/m aceite, C: 44% m/m aceite y E: 1,00% m/m Tween y 11 % m/m aceite, F: 2,00% m/m Tween y 11 % m/m aceite, G: 1,00% m/m Tween y 44 % m/m aceite y H: 2,00% m/m Tween y 11 % m/m aceite (todas contenían 0,25% m/m de goma xántica).

Efecto del uso de goma guar y del agregado de cloruro de sodio sobre el tamaño de gota de las emulsiones

Se determinó el efecto del uso de goma guar y del agregado de cloruro de sodio en la distribución del tamaño de partícula de las emulsiones realizadas al inicio del ensayo. Los diámetros $D_{3,2}$ se muestran en las **Figuras 4 y 5**. Se observó que el uso de goma guar en lugar de goma xántica promovió un aumento marcado en el $D_{3,2}$ (**Figura 4**). Esta diferencia estaría indicando una mejor capacidad estabilizante por parte de la goma xántica. Con respecto al agregado de cloruro de sodio, este aumentó significativamente el $D_{3,2}$, pero el efecto fue menor al elevarse la concentración de goma xántica (**Figura 5**). La adición de sal podría desestabilizar las emulsiones a través de la reducción de la repulsión electrostática entre las gotas. Estos resultados pueden atribuirse a los efectos de apantallamiento electrostático o a la acumulación de iones de carga opuesta (Na^+ o Cl^-) alrededor de las superficies de las gotas (McClements 2004; Klinkesorn 2009). El aumento de la goma xántica disminuiría este apantallamiento electrostático, lo que estabilizaría la emulsión disminuyendo el tamaño de gota.

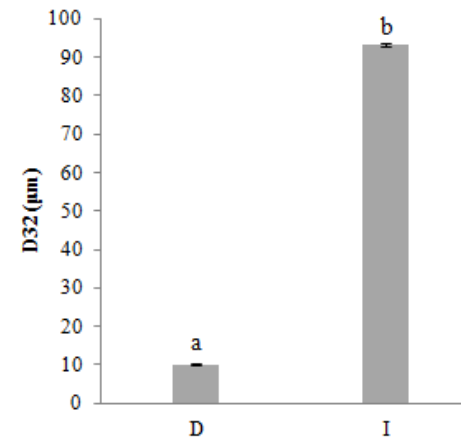


Figura 4: Efecto del estabilizante sobre el diámetro medio de Sauter ($D_{3,2}$) de las emulsiones D e I, sin inocular, medidas a las 24 hs. Las barras marcadas con la misma letra no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$, test de Tukey). D: 1,00% m/m goma xántica y 44 % m/m aceite e I: 1,00% m/m goma guar y 44 % m/m aceite.

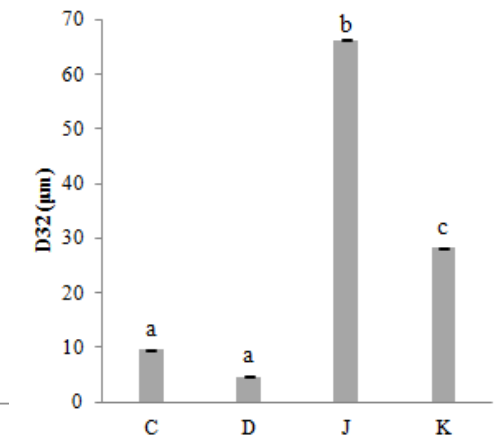


Figura 5: Efecto del agregado de NaCl sobre el diámetro medio de Sauter ($D_{3,2}$) de las emulsiones C, D, J y K, sin inocular, medidas a las 24 hs. Las barras marcadas con la misma letra no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$, test de Tukey). C: 0,25% m/m goma xántica D: 1,00% m/m goma xántica, J: 0,25% m/m goma xántica y 3,00 % m/m NaCl y K: 1,00% m/m goma xántica y 3,00 % m/m NaCl. (Todas contenían 44% m/m de aceite).

Efecto de la inoculación y del tiempo sobre la estabilidad de las emulsiones

Se puede observar en la **Tabla 2** los diámetros medios de Sauter ($D_{3,2}$) y diámetros de De Brouckere ($D_{4,3}$) y sus desvíos estándar para las emulsiones inoculadas y sin inocular medidas al primer y al séptimo día de su preparación.

La inoculación incrementó el $D_{3,2}$ de las emulsiones C (0,25 % m/m de goma xántica y 44,00 % m/m de aceite) y K (1,00 % m/m de goma xántica, 44,00 % m/m de aceite y NaCl). El aumento del tamaño de partícula observado podría ser originada por la desestabilización de las emulsiones causada por el crecimiento de *Z. bailii*. Según Li et al. (2001), el desarrollo microbiano puede promover la inestabilidad física de la emulsión, debido a la interacción de los microorganismos con las gotas de aceite, lo cual se encuentra muy influenciado por la carga superficial del microorganismo y de las gotas de la emulsión. Las bacterias cargadas negativamente promueven la floculación y coalescencia de las emulsiones que contienen gotas cargadas positivamente. Además, la magnitud de la diferencia de carga entre las bacterias y las gotas podría influir en la fuerza de la interacción. Cabe también la posibilidad de que los microorganismos pudieran perturbar emulsiones de alimentos por otros mecanismos, tales como la disminución del pH de la fase continua, como consecuencia de la formación de productos de fermentación, o por la ruptura de las gotas de la emulsión para la utilización de los emulsionantes como nutrientes por los microorganismos. Es de destacar que, la inoculación disminuyó el $D_{3,2}$ y $D_{4,3}$ de las emulsiones que contenían goma guar, comparadas a los mismos tiempos de medición. Probablemente, esto se vincule con la

ausencia de grupos ionizables en la estructura de la goma guar (Be Miller y Whistler, 2010)

El parámetro $D_{4,3}$ está relacionado con el volumen ocupado por las partículas y por lo tanto es más sensible a la aglomeración, la desagregación o floculación. Después de 7 días de almacenamiento, independientemente de la inoculación, se observó un aumento del $D_{4,3}$ de las emulsiones con goma guar (I), lo que indica que las partículas se están agregando. La inoculación también incrementó el $D_{4,3}$ de las emulsiones D (1% m/m goma xántica y 44,00% de aceite) y de las que contenían NaCl (sistemas J y K). Al agregar sal, la repulsión electrostática entre las gotas disminuye y con el tiempo ya no es suficientemente fuerte para evitar la floculación que podría resultar en coalescencia de las gotitas. La desestabilización de la emulsión por la sal también se ha observado en emulsiones de tipo aderezos para ensalada, aceite de maíz y emulsiones de aceite de soja (Demetriades y McClements 1998, Harnsilawat *et al.* 2006; Martínez *et al.* 2007, Klinkesorn 2009).

Las emulsiones con Tween 20 no se vieron afectadas por la inoculación ni por el tiempo (datos no mostrados), lo que pone de manifiesto su buena capacidad emulsificante. Tendencias similares fueron informadas por Li et al. (2001) en emulsiones estabilizadas con Tween 20 e inoculadas con *Escherichia coli*.

Tabla 2: Diámetros medios de Sauter ($D_{3,2}$) y diámetros de De Brouckere ($D_{4,3}$) y sus desvíos estándar de las emulsiones inoculadas y sin inocular medidas al 1^{er} y al 7^{mo} día de su preparación.

Sistemas	$D_{3,2} \pm$ desvío estándar (μm)			
	Sin inocular		Inoculadas	
	Día 1	Día 7	Día 1	Día 7
A	5,91 \pm 0,04 a	5,95 \pm 0,04 a	6,00 \pm 0,02 a	7,11 \pm 0,11 b
B	4,62 \pm 0,38 a	4,93 \pm 0,04 a	4,91 \pm 0,09 a	4,70 \pm 0,12 a
C	9,63 \pm 0,09 a	9,89 \pm 0,03 a	10,44 \pm 0,07 b	10,47 \pm 0,13 b
D	10,13 \pm 0,10 a	9,45 \pm 0,14 a	9,82 \pm 0,93 a	10,73 \pm 0,01 a
I	93,31 \pm 0,51 b	95,51 \pm 0,52 b	89,75 \pm 0,13 a	93,16 \pm 0,13 b
J	66,35 \pm 0,36 a	65,85 \pm 0,22 a	67,91 \pm 0,05 a	67,83 \pm 1,36 a
K	28,29 \pm 0,19 a	28,73 \pm 0,20 a	37,41 \pm 0,43 b	37,75 \pm 1,02 b
Sistemas	$D_{4,3} \pm$ desvío estándar (μm)			
	Sin inocular		Inoculadas	
	Día 1	Día 7	Día 1	Día 7
A	9,90 \pm 0,09 a	11,52 \pm 1,32 a	10,13 \pm 0,02 a	11,42 \pm 0,11 a
B	6,77 \pm 0,01 a	6,89 \pm 0,03 b	6,83 \pm 0,03 ab	6,82 \pm 0,01 ab
C	16,91 \pm 0,12 a	17,46 \pm 0,12 ab	18,07 \pm 0,09 bc	18,29 \pm 0,27 c
D	20,89 \pm 0,53 a	21,01 \pm 0,37 a	22,67 \pm 0,18 b	23,08 \pm 0,38 b
I	99,95 \pm 0,32 b	103,14 \pm 0,93 c	97,43 \pm 0,41 a	99,78 \pm 0,15 b
J	71,20 \pm 0,36 ab	70,65 \pm 0,27 a	72,98 \pm 0,06 bc	73,33 \pm 0,86 c
K	32,09 \pm 0,17 a	32,49 \pm 0,12 b	41,90 \pm 0,28 c	42,01 \pm 0,77 c

Letras comunes en la misma fila indican que los parámetros no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$, test de Tukey).

CONCLUSIONES

Los distintos ingredientes utilizados en este trabajo mostraron una marcada influencia sobre la estabilidad de las emulsiones, lo que se pudo evidenciar en los distintos tamaños de gota obtenidos. La goma xántica mostró una mejor capacidad estabilizante que la goma guar. Con agregado del Tween 20 se obtuvo una disminución muy marcada del $D_{3,2}$ y excelente estabilidad en el tiempo analizado, lo que evidenció su buena capacidad emulsionante. La adición de cloruro de sodio desestabilizó a las emulsiones, efecto que se vinculó con la reducción de la repulsión electrostática entre las gotas. Este resultado se vio contrarrestado con el aumento de goma xántica, la cual ayudaría a estabilizar las emulsiones con sal.

Por otra parte, se comprobó que la contaminación con la levadura desestabiliza la emulsión, lo que limitaría la vida útil del alimento. Los resultados presentados destacan la importancia que ejercen los agentes estabilizantes, emulsionantes, el agregado de sal, la cantidad de aceite y la inoculación sobre la estabilidad de emulsiones aceite en agua.

BIBLIOGRAFIA

- Be Miller J y Whistler RL. 2010. Carbohidratos. En: Fennema O. R. Química de los alimentos. 2°ed. Zaragoza: Acribia, S.A. pag 189-265.
- Castro M, Garro O, Gerschenson LN y Campos CA. 2003. Interaction between potassium sorbate, oil and tween 20: Its effect on the growth and inhibition of *Z. bailii* in model salad dressings. *Journal of Food Safety*. 23:47-59.
- Castro M, Rojas AM, Campos CA y Gerschenson LN. 2009. Effect of preservatives, tween 20, oil content and emulsion structure on the survival of *Lactobacillus fructivorans* in model salad dressings. *LWT-Food Science and Technology*. 42:1428-1434.
- Camino NA, Perez OE, Pilosof AMR. 2009. Molecular and functional modification of hydroxypropylmethylcellulose by high-intensity ultrasound. *Food Hydrocolloids* 23 (4): 1089–1095.
- Demetriades K y McClements DJ. 1998. Influence of dextran sulfate and NaCl on the flocculation of oil-in-water emulsions stabilized by a nonionic surfactant. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46:3929–3935.
- Evans DF, Wennerström H. 1994. The Colloidal Domain. Where Physics, Chemistry, Biology and Technology Meet. VCH Publishers, N.York.
- Harnsilawat T, Pongsawatmanit R y McClements DJ. 2006. Influence of pH and ionic strength on formation and stability of emulsions containing oil droplets coated by b-lactoglobulin-alginate interfaces. *Biomacromolecules*, 7: 2052–2058.
- Kippax P. 2005. Laser diffraction particle sizing. *Pharmaceutical Technology Europe*, 1:32-38.

Klinkersorn U, Namatsila Y. 2009. Influence of chitosan and NaCl on physicochemical properties of low-acid tuna oil-in-water emulsions stabilized by non-ionic surfactant. *Food Hydrocolloids*. 23:1374-1380.

Kurtzman CP, Rogers PR, y Hesseltine CW. 1971. Microbiological spoilage of mayonnaise and salad dressings. *Applied of Microbiology and Biotechnology*. 21:870-874.

Leroux J, Langendorff V, Schick G, Vaishnav V y Mazoyer J. 2003. Emulsion stabilizing properties of pectin. *Food Hydrocolloids* 17(4): 455-462.

Li J, McClements DJ y McLandsborough LA. 2001. Interaction between Emulsion Droplets and *Escherichia coli* Cells. *Journal of Food Science*, 66(4): 570-657.

Martinez I, Riscardo MA y Franco JM. 2007. Effect of salt content on the rheological properties of salad dressing-type emulsions stabilized by emulsifier blends. *Journal of Food Engineering*, 80: 1272–1281.

McClements, DJ. 2004. *Food emulsions: Principles, practice and techniques*. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press.

Muñoz J, Alfaro MC, Zapata I. 2007. Avances en la formulación de emulsiones. *Grasas y Aceites*, 58 (1): 64-73.

Sikora M, Badrie N, Deisingh AK, Kowalski A. 2008. Sauces and Dressings: A Review of Properties and Applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48:50–77.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo económico de la Universidad de Buenos Aires y del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la República Argentina